DOI: 10.29296/25419218-2018-02-01

© Коллектив авторов, 2018
УДК 615.076.9

ОБЪЕМ ВЫБОРКИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

М.Н. Макарова, Е.В. Шекунова, А.В. Рыбакова, В.Г. Макаров

НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, гп. Кузьмоловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Макарова Марина Николаевна, доктор медицинских наук, директор АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Тел.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 270-27-51. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

Шекунова Елена Васильевна, кандидат биологических наук, Руководитель исследований АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Тел.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 994-51-23. E-mail: shekunova.ev@doclinika.ru

Рыбакова Анна Владимировна, кандидат ветеринарных наук, зам. директора по ветеринарии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Тел.: +7 (812) 603-24-32; +7 (960) 234-70-90. E-mail: rybakova.av@doclinika.ru

Макаров Валерий Геннадьевич, доктор медицинских наук, зам. директора по науке АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ». Тел.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 934-14-35. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru

Сегодня принципы 3R, «принципы гуманной методики эксперимента», являются общепринятым мировым стандартом, который позволяет в значительной степени сократить число лабораторных животных. При этом очень важно, чтобы сокращение числа животных не противоречило интересам исследования и не снижало достоверности полученных экспериментальных данных.

Анализируются основные подходы к определению объема выборки экспериментальных животных при разном уровне доступности предварительных сведений об изучаемом лекарственном средстве. Даны примеры использования методов «Power and Sample Size Analysis» и «выравнивания ресурса» как способов оценки достаточности выборки экспериментальных животных. Рассмотрены основные подходы к выбору количества животных при изучении острой токсичности по некоторым зарубежным и российским руководствам. Проанализирован метод расчета объема выборки в случае достаточного количества предварительных экспериментальных данных на примере оценки биохимических параметров в ходе исследования хронической токсичности. Систематизированы рекомендации зарубежных агентств, регулирующих обращение лекарственных средств, по выбору числа экспериментальных животных в зависимости от длительности исследования, возраста животных к началу исследования и других факторов.

Ключевые слова: лабораторные животные, биоэтика, объем выборки, токсичность, статистические методы анализа.

Для цитирования: Макарова М.Н., Шекунова Е.В., Рыбакова А.В., Макаров В.Г. Объем выборки лабораторных животных для экспериментальных исследований. Фармация, 2018; 67 (2): 3–8. **DOI: 10.29296/25419218-2018-02-01**

В 1959 г. Расселом и Берчем [1] была предложена концепция 3R, которая в 2010 г. нашла свое отражение в Европейской Директиве 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях [2]. Выбор числа животных (минимальное с позиций биоэтики и достаточное с точки зрения статистических методов анализа) остается за исследователем и крайне редко обосновывается в экспериментальных научных работах.

С точки зрения статистики необходимый объем выборки зависит от следующих факторов: мощность (1–β) – вероятность обнаружения эффекта заданной величины как статистически значимого; уровень значимости α; характеристика вариабельности наблюдений; наименьший значимый эффект.

В настоящее время существует ряд компьютерных программ, позволяющих рассчитать необходимый объем выборки до начала исследования, исходя из требуемой мощности 70–80%. Для проведения необходимых вычислений в распоряжении экспериментатора должны быть предва-

рительные (или данные литературы) данные, которые наглядно демонстрируют вариабельность исследуемого параметра.

В зависимости от цели эксперимента и изучаемого параметра используются разные методы расчета, а частности выбор метода расчета будет зависеть от того, изучается качественный или количественный параметр [3].

В большинстве случаев для расчета размера выборки необходимо представление о разнице средних значений между группами (либо экспериментально полученное, либо установленное исследователем значение, которое будет рассматриваться как клинически значимое), а также значение стандартного отклонения исследуемого параметра (по результатам предыдущих экспериментов или по данным литературы).

Если невозможно оценить вариабельность параметра заранее, используется «resource equation method» – метод выравнивания ресурса [4]. В этом методе ключевым является параметр E (E = общее число животных минус общее число групп), который рассчитывается, исходя из определенных заранее значений размера выборки. Значение E должно быть в пределах от 10 до 20 для оптимального размера выборки. Если значение E меньше 10, тогда должно быть включено большее число животных. Если значение E больше, чем 20, то количество животных должно быть уменьшено.

Однако это довольно приблизительный метод, который может быть использован только при невозможности провести расчет размера выборки с использованием анализа мощности.

При проведении доклинических исследований новых или воспроизведенных лекарственных препаратов на животных необходимым является изучение токсичности и специфической активности. Исследование токсичности включает в себя изучение острой, хронической (субхронической) токсичности и специфических видов токсичности. При этом изучение токсичности описывается в различных нормативных документах, и число животных в исследованиях обычно регламентировано. В исследованиях специфической активности размер выборки может быть различным и зависит от метода исследования, наличия предварительных данных, качества регистрируемых параметров и т.д.

Основной целью изучения острой токсичности, согласно отечественным рекомендациям [5], является установление $ЛД_{50}$ или в соответствии с рекомендациями ОЭСР установление принадлежности вещества к классу токсичности по глобальной гармонизированной системе GHS [6]. Чаще всего для точного определения $ЛД_{50}$ применяется метод пробит-анализа, при котором рекомендовано использовать 5–6 животных для тестирования каждой дозы.

В Европейском Союзе за последние десятилетия разработаны подходы, позволяющие изучать острую токсичность, максимально ограничивая число животных, участвующих в эксперименте (протоколы ОЭСР 420, 423, 425) [7–9]. В настоящее время в России в качестве ГОСТов приняты протоколы 420 и 423 [10, 11]. При изучении хронической токсичности размер групп тоже определен рекомендациями, как зарубежными, так и отечественными. В соответствии с 452-м протоколом ОЭСР [12] и ГОСТ 32519-2013 [13] рекомендовано использовать 20 животных каждого пола на группу для грызунов, и минимум 4 животных каждого пола на группу для не грызунов.

Поскольку для определения размера выборки приходится учитывать несколько параметров, то расчет необходимого числа животных в выборке с помощью подходов «Power and Sample Size Analysis» приводит к значительному числу животных, включенных в эксперимент. Однако включение такого большого числа животных нецелесообразно ни с гуманных позиций, ни с точки зрения экономической целесообразности, особенно, если речь идет о крупных лабораторных животных. Поэтому следует руководствоваться рекомендациями, которые являются результатом многолетней работы специалистов, в частности изучения хронической токсичности на крупных животных, что позволит получить хорошие результаты при использовании установленного нормативными документами размера выборки.

В табл. 1 приведен вариант расчета числа животных в группе для выявления статистических различий по ряду показателей биохимического анализа крови между контрольной группой и группой, получавшей препарат. В случае введения препарата 1 статистически (и клинически) значимые отличия были выявлены в эксперименте по показателям АСТ, АЛТ, ЩФ. При введении препарата 2 статистически (и клинически) значимые отличия были выявлены в эксперименте по показателям АСТ, АЛТ, триглицериды, общий билирубин, креатинин, мочевина. Согласно данным табл. 1, расчетное число животных в группе, достаточное для сравнения 2 групп при наличии эффекта препарата на дан-

ный показатель, колеблется от 1 до 10. При отсутствии клинически значимого эффекта число животных должно быть увеличено многократно, при этом даже выявленная статистическая значимость не будет гарантировать наличие клинически значимого изменения показателя (например, снижение уровня глюкозы с 7,6 в контроле до 7,1 в группе, получавшей препарат 1, не является клинически значимым).

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

В тех случаях, когда предположительно исследуемый препарат будет существенно влиять на изучаемые показатели, объем выборки животных может быть небольшим и укладываться в необходимый минимум для применения описательной статистики. Если же доступные данные об исследуемом препарате отсутствуют, или нет уверенности в их достоверности, целесообразно проводить небольшие по объему предварительные исследования, позволяющие рассчитать объем выборки, а также использовать заведомо большие объемы выборки экспериментальных животных. В табл. 2 приведены объемы выборки для изучения разных видов токсичности на различных видах животных.

В исследовании специфической активности при расчете необходимого размера выборки в ряде случаев можно прибегнуть к Power and Sample Analysis, но если используемый метод хорошо известен или хорошо отработан в лаборатории, размер выборки может быть определен на основании уже полученных результатов или данных литературы. При участии в эксперименте мелких лабораторных животных их число в группе обычно составляет от 6 до 10. При использовании крупных лабораторных животных это число может быть гораздо меньше. В табл. 3 приведены примеры по объему выборки экспериментальных животных на различных моделях заболеваний.

Представленные данные свидетельствуют о существенно более низком объеме выборки

Таблица 1

НЕОБХОДИМОЕ ЧИСЛО ЖИВОТНЫХ В ВЫБОРКЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ОТЛИЧИЙ ОТ ГРУППЫ КОНТРОЛЯ

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

Примечание. * – клинически значимое отклонение по сравнению с контрольной группой; M –7 среднее значение; SD – стандартное отклонение. Расчет числа животных в группе, которое необходимо для выявления статистических отличий между 2 группами, проведен с помощью он-лайн калькулятора (http://powerandsamplesize.com/Calculators/)

Таблица 2

ОБЪЕМ ВЫБОРКИ И ИСХОДНЫЕ ДАННЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ТОКСИЧНОСТИ НА ГРЫЗУНАХ И НЕ ГРЫЗУНАХ ПО ТРЕБОВАНИЯМ ЗАРУБЕЖНЫХ АГЕНТСТВ

Параметры исследования	Грызуны						Крупные животные (не грызуны)					
	субхроническая токсичность			хроническая токсичность			субхроническая токсичность			хроническая токсичность		
	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA	OECD	FDA	EPA
Длительность исследования	≥90 дн	≥90 дн	≥90 дн	≥12 мес	≥12 мес	≥12 мес	≥90 дн	≥90 дн	≥90 дн	≥12 мес	≥12 мес	≥12 мес
Количество групп	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4
Количество животных в группе каждого пола	≥10	≥20	≥10	≥20	≥20	≥20	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4	≥4
Возраст животных (на начало исследования)	≤9 нед	≤6 нед	≤8–9 нед	≤8 нед	≤6 нед	≤8 нед	4–6 мес	4–6 мес	4–6 мес	–	4–6 мес	4–6 мес

крупных лабораторных животных, обычно группу формируют из 4–6 особей, и лишь в некоторых случаях используют до 10 животных (см. табл. 2, 3).

Таблица 3

ПРИМЕРЫ ОБЪЕМА ВЫБОРКИ КРУПНЫХ ВИДОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОЦЕНКЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Вид исследования	Вид животных	Число групп	Число животных в группе	Источник литературы
Модели сердечно-сосудистых патологий (оперативное вмешательство)	Мини-пиги	3	5	[14]
	Мини-пиги	1	6	[15]
	Собаки	1	5	[16]
	Собаки	2	6	[17]
	Собаки	8	2	[18]
	Мини-пиги	8	2	
Модели патологии респираторного тракта	Собаки	4	4	[19]
	Собаки	6	3	[20]
	Макаки			
	Мини-пиги			
	Мини-пиги	4	6	[21]
Модели стоматологических заболеваний, ортодонтия	Собаки	2	5	[22]
	Собаки	1	4	[23]
	Мини-пиги	2	10	[24]
Модели патологии опорно-двигательного аппарата	Мини-пиги	2	5	[25]
	Мини-пиги	2	8	[26]
	Свиньи	5	3	[27]
Модели сахарного диабета, ожирения и метаболического синдрома	Собаки	2	7	[28]
	Свиньи	2	8	[29]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выбор вида и числа животных в экспериментальных доклинических исследованиях – важная составляющая для получения достоверных данных. Для получения статистически значимых, достоверных данных не всегда требуется большое число животных. Всегда следует помнить, что соблюдение «принципов гуманной методики эксперимента» также – неотъемлемая часть корректно проведенного исследования. Правильное использование статистических методов для определения минимально необходимой выборки лабораторных животных позволяет при небольших экономических затратах получить достоверные результаты даже при ограниченном числе животных.

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest
The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. 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.

2. Russell W.M.S., Birch R.L. The principles of humane experimental technique. Methuen, London, 1959.

3. Charan J., Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research? Indian J Psychol Med., 2013; 35(2): 121–6.

4. Festing M.F., Altman D.G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. Institute for Laboratory Animal Research. ILAR J. 2002; 43: 244–58.

5. Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова. Том. 1. М.: НЦЭМСП, 2012; 942. [A guide to preclinical drug research (by ed. A.N. Mironov), tom. 1. Moscow: NCJeMSP, 2012; 942 (in Russian)].

6. Globally Harmonised System of classification and labelling of chemicals (GHS). Fifth revised edition. United Nations. New York and Geneva. 2013; 530.

7. OECD (2001) Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure № 420.

8. OECD (2001) Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method № 423.

9. OECD (2001) Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UPD). № 425.

10. ГОСТ 32296-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы» [GOST 32296-2013 «Methods of testing the effects of chemical products on the human body. The main requirements for conducting tests to assess acute toxicity with intragastric intake by the fixed dose method» (in Russian)].

11. ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности» [GOST 32644-2014 «Methods of testing the effects of chemical products on the human body. Acute oral toxicity is a method for determining the class of acute toxicity» (in Russian)].

12. OECD (2009) Guideline for testing of chemicals. Chronic Toxicity Studies № 452.

13. ГОСТ 32519-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Изучение хронической токсичности при внутрижелудочном поступлении» [GOST 32519-2013 «Methods of testing the effects of chemical products on the human body. The study of chronic toxicity with intragastric intake» (in Russian)].

14. Chen Z., Cao Y., Qian J., Ge J. TNF-α/mir-125b involved in cardiac micro-infarction and dysfunction after coronary microembolization in mini-pigs. Journal of the American College of Cardiology, 2015; 35: 152.

15. Bessiere F., N'djin W.A., Colas E.C., Chavrier F., Greillier P., Chapelon J.Y., Chevalier P., Lafon C. Ultrasound-Guided Transesophageal High-Intensity Focused Ultrasound Cardiac Ablation in a Beating Heart: A Pilot Feasibility Study in Pigs. Ultrasound in Medicine & Biology., 2016; 42: 1848–61.

16. Regan C. P., Stump G. L., Detwiler T. J., Chen L., Regan H. K., Gilberto D.B., DeGeorge J.J., Sannajust F.J. Characterization of an investigative safety pharmacology model to assess comprehensive cardiac function and structure in chronically instrumented conscious beagle dogs. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2016; 81: 107–14.

17. Kalogianni L., Koutinas C.K., Theodorou K., Xenoulis P. G., Suchodolski J.S., Harrus S., Steiner J.M., Siarkou V.I., Mylonakis M.E. Cardiac troponin I concentrations, electrocardiographic and echocardiographic variables remained unchanged in dogs experimentally infected with Ehrlichia canis. The Veterinary Journal, 2016; 217: 109–11.

18. Yuan H., Zhao J., Guo J., Wu R.N., He L., Cui Y., Feng M., Zhang T., Hou M., Guo Q., Zhang L., Jia L., Huang C., Ye L., Peng S. Comparison of freely-moving telemetry Chinese Miniature Experiment Pigs (CMEPs) to beagle dogs in cardiovascular safety pharmacology studies. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2014; 70: 19–28.

19. Segal L., Roger V., Williams C., Destexhe E., Garçon N. Effects of Adjuvant Systems on the cardiovascular and respiratory functions in telemetered conscious dogs and anaesthetised rats. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2015; 73: 116–25.

20. Truchetti G., Troncy E., Robichaud A., Gold L., Schuessler T., Maghezzi S., Bassett L., Authier S., Respiratory mechanics: Comparison of Beagle dogs, Göttingen minipigs and Cynomolgus monkeys. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods., 2014; 70: 48–54.

21. Rivera-Benitez J.F., De la Luz-Armendáriz J., Saavedra-Montañez M., Jasso-Escutia M.Á., Sánchez-Betancourt I., Pérez-Torres A., Reyes-Leyva J., Hernández J., Martínez-Lara A., Ramírez-Mendoza H. Co-infection of classic swine H1N1 influenza virus in pigs persistently infected with porcine rubulavirus. Veterinary Microbiology., 2016; 184: 31–9.

22. Ren A., Lv T., Kang N., Zhao B., Chen Y., Bai D. Rapid orthodontic tooth movement aided by alveolar surgery in beagles. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 2007; 131: 160.

23. Wei N., Gong P., Liao D., Yang X., Li X., Liu Y., Yuan Q., Tan Z. Auto-transplanted mesenchymal stromal cell fate in periodontal tissue of beagle dogs. Cytotherapy, 2010; 12: 514–521.

24. Gredes T., Mack H., Spassov A., Kunert-Keil C., Steele M., Proff P., Mack F., Gedrange T. Changes in condylar cartilage after anterior mandibular displacement in juvenile pigs. Archives of Oral Biology, 2012; 57: 594–8.

25. Peacock Z. S., Tricomi B., Murphy B., Magill J., Kaban L.B., Troulis M. Automated Continuous Distraction Osteogenesis May Allow Faster Distraction Rates: A Preliminary Study. J. Oral Maxillofac. Surg., 2013; 71: 1073–84.

26. Hakimi M., Jungbluth P., Sager M., Betsch M., Herten M., Becker J., Windolf J., Wild M. Combined use of platelet-rich plasma and autologous bone grafts in the treatment of long bone defects in mini-pigs. Injury., 2010; 41: 717–23.

27. Pithon M.M., Nojima M.G., Nojima L.I. Primary stability of orthodontic mini-implants inserted into maxilla and mandible of swine. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology, 2012; 113: 748–54.

28. Xu J., Bourgeois H., Vandermeulen E., Vlaeminck B., Meyer E., Demeyere K., Hesta M. Secreted phospholipase A2 inhibitor modulates fatty acid composition and reduces obesity-induced inflammation in Beagle dogs. The Veterinary Journal, 2015; 204: 214–9.

29. Elmadhun N.Y., Lassaletta A.D., Chu L.M., Liu Y., Feng J., Sellke F.W. Atorvastatin increases oxidative stress and modulates angiogenesis in Ossabaw swine with the metabolic syndrome. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2012; 144: 1486–93.

Поступила 24 октября 2017 г.

THE SAMPLE SIZE OF LABORATORY ANIMALS FOR EXPERIMENTAL STUDIES

M.N. Makarova, MD; E.V. Shekunova, PhD; A.V. Rybakova, PhD; Professor V.G. Makarov, MD
HOUM OF PHARMACY Research-and-Production Association; 3, Zavodskaya St., Build. 245, Kuzmolovsky Urban-Type Settlement, Vsevolozhsky District, Leningrad Region 188663

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Makarova Marina Nikolaevna, doctor of medical sciences, director of JSC «RMC» HOUM OF PHARMACY».
Tel.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 270-27-51. E-mail: makarova.mn@doclinika.ru

Shekunova Elena Vasilievna, PhD of Biological Sciences, Head of Research JSC «RMC» HOUM OF PHARMACY».
Tel.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 994-51-23. E-mail: shekunova.ev@doclinika.ru

Rybakova Anna Vladimirovna, PhD of veterinary sciences, deputy. Director for Veterinary of JSC «RMC» HOUM OF PHARMACY».
Tel.: +7 (812) 603-24-32; +7 (960) 234-70-90. E-mail: rybakova.av@doclinika.ru

Makarov Valery Gennadievich, doctor of medical sciences, deputy. director for sciences JSC «RMC» HOUM OF PHARMACY».
Tel.: +7 (812) 603-24-32; +7 (911) 934-14-35. E-mail: makarov.vg@doclinika.ru

SUMMARY

Today, the principles of the 3Rs (Replacement, Reduction, and Refinement), the principles of humane experimental technique, are a generally accepted international standard that can largely decline the number of laboratory animals. At the same time, it is very important that the decline of the number of animals does not contradict the interests of a study or reduce the reliability of experimental findings.

The paper analyzes main approaches to determining the sample size of experimental animals at different levels of availability of preliminary information on a test drug. It gives examples of using the power and sample size analysis and resource alignment as ways to assess the sufficient sample size of experimental animals. The authors consider main approaches to selecting the number of animals for use in the study of acute toxicity according to some foreign and Russian guidelines. They analyze the sample size calculation method if there is a sufficient number of preliminary experimental data by the example of assessing biochemical parameters in the study of chronic toxicity. The paper systematizes the recommendations of foreign agencies regulating the circulation of medicines by the selection of the number of experimental animals in relation to study duration, animal age at the beginning of the study, and other factors.

Key words: laboratory animals, bioethics, sample size, toxicity, statistical methods of analysis.

For citation: Makarova M.N., Shekunova E.V., Rybakova A.V., Makarov V.G. The sample size of laboratory animals for experimental studies. Farmatsiya (Pharmacy), 2018; 67 (2):3–8. **DOI: 10.29296/25419218-2018-02-01**