

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
проф. О. Власенко

«12» жовтня 2020 р.



МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
навчальної дисципліни

НАВИКИ ЛАБОРАТОРНИХ ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ
(назва навчальної дисципліни)

з підготовки доктора філософії
на третьому (освітньо-науковому) рівні вищої освіти

галузі знань 22 Охорона здоров'я, 09 Біологія
(шифр і назва галузі знань)

спеціальності 222 Медицина, 221 Стоматологія, 228 Педіатрія,
229 Громадське здоров'я, 091 Біологія
(код і найменування спеціальності)

мова навчання українська, англійська

2020 рік
Вінниця

РОЗРОБЛЕНО ТА ВНЕСЕНО: Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова

РОЗРОБНИКИ: доцент, к.мед.н. І.В. Таран

Обговорено на засіданні кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім.. М.І. Пирогова та рекомендовано до затвердження на центральній методичній раді / науковій комісії
« 25 » вересня 2020 року, протокол № 3

Схвалено на центральній методичній раді / науковій комісії та рекомендовано до затвердження вченою радою
« 5 » жовтня 2020 року, протокол № 2

Тема 1. Етапи реєстрації лікарського засобу в Україні та світі.

Процедури реєстрації в Україні і світі стає дедалі схожою, з 2005 року українська система реєстрації або перереєстрації лікарських засобів (ЛЗ.) поступово гармонізується та узгоджується з Європейськими партнерами. Необхідно чітко уявляти процедуру реєстрації ЛЗ., знати нормативу базу законів, та вирізняти етапи становлення ліків. Наразі до лікарських засобів відносять готові ЛЗ, Імунобіологічні засоби, та активні фармацевтичні інгредієнти АФІ. Розробка лікарського засобу є поетапним процесом, що включає отримання даних на першій фазі дослідження, що вважається доклінічним. Основною задачею цього етапу є встановлення фармакологічної безпеки. В поняття фармакологічної безпеки, зазвичай, входять питання про токсичність препаратів та встановлення класу токсичності за класифікатором, а також вплив цих засобів на центральну нервову, серцево-судинну та дихальну системи. Також важливою ланкою процесу створення та реєстрації ЛЗ. є отримання даних що збудують передумови для подальших клінічних досліджень.

Законодавство про реєстрацію лікарських засобів дуже тісно переплітається з вимогами відносно управління безпекою (фармаконагляду) і управління якістю лікарських засобів. Так, для отримання і підтримки реєстраційного посвідчення на готовий лікарський засіб заявникові необхідно:

1. Провести державну реєстрацію шляхом подання Заявки до МОЗ України і експертизи матеріалів реєстраційного досьє в ДЕЦ.
2. Створити і підтримувати систему фармаконагляду на території України.
3. Підтвердити або сертифікувати відповідність виробництва вимогам GMP.
4. Провести реєстрацію макетів первинної і вторинної упаковки в ЄАІС Держлікслужби.

Відносно активних субстанцій (АФІ) не застосовуються вимоги до підтвердження/сертифікації відповідності GMP, а також не є потрібною реєстрація макетів.

Загальні вимоги до реєстраційних матеріалів:

Документація для стандартної процедури нової реєстрації складається з наступних частин:

- Заявка на реєстрацію, заповнена згідно з національною формою;
- реєстраційна форма (юридична і адміністративна документація, яка супроводжує Заявку);
- реєстраційне досьє в CTD форматі, що складається з 5 Модулів (Модулі 2-5 відповідають вимогам ICH CTD);
- переклад частин реєстраційного досьє українською або російською мовою;
- специфічні національні документи, а саме:
 - МКЯ – методи контролю якості лікарського засобу, які включають склад продукту, специфікацію на випуск і зберігання, детальний опис методів, дані про виробників, опис системи упаковки, термін придатності й умови зберігання;
 - інструкція для застосування – інформація про застосування лікарського засобу, яка найчастіше постачається у вигляді листка-вкладиша;
 - макет і опис упаковки – опис інформації, нанесеної на первинну і вторинну упаковку лікарського засобу.

Існує велика кількість специфічних вимог до оформлення реєстраційної документації, найбільш важливі:

- уся документація подається в паперовому вигляді (Заявка, реєстраційна форма, реєстраційне досьє, специфічні національні документи);
- реєстраційне досьє має суворі вимоги до оформлення, а саме: кількість сторінок в теці, інформація на обкладинці, нумерація сторінок і зміст;
- реєстраційне досьє подається в декількох не ідентичних екземплярах;

- комунікація відбувається як шляхом записів на особистий прийом, так і шляхом кореспонденції;
- кореспонденція під час експертизи реєстраційних матеріалів виконується тільки в паперовому вигляді, як і будь-які додаткові матеріали (відповіді на зауваження);
- ряд документації (наприклад – інструкція для застосування) може виправлятися в процесі експертизи декілька десятків разів.

Основні законодавчі акти:

1. Закон України «Про лікарські засоби»;
2. Постанова Кабінету Міністрів України від 26.05.2005 р. № 376 «Про затвердження порядку державної реєстрації (перереєстрації) лікарських засобів і розмірів зборів за їх державну реєстрацію (перереєстрацію)»;
3. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 26.08.2005 р. № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи матеріалів на лікарські засоби, які подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів упродовж дії реєстраційного посвідчення» (у редакції Наказу МОЗ України від 23.07.2015 р. № 460);
4. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 27.12.2006 № 898 «Про затвердження Порядку здійснення нагляду за побічними реакціями лікарських засобів, дозволених для медичного застосування» (у редакції Наказу МОЗ України від 26.09.2016 р. № 996 «Про затвердження порядку здійснення фармаконагляду»);
5. Постанова Кабміну України №902 від 14.09.2005 «Про затвердження Порядку проведення державного контролю якості лікарських засобів, що ввозяться в Україну».

Знати:

- Акти міжнародного та українського законодавства, що регулюють проведення доклінічних та клінічних досліджень
- Етапи реєстрації лікарських засобів в Україні та світі
- Перелік необхідної документації для реєстрації лікарських засобів

Вміти:

- Інтерпретувати та аналізувати інформацію з використанням новітніх інформаційних технологій
- Дати характеристику основних етапів, необхідних для реєстрації лікарського засобу
- Застосовувати отримані теоретичні знання з фармакодинаміки та фармакокінетики лікарських засобів в практичній медицині

Література:

1. Закон України «Про лікарські засоби» (із змінами) №124/96ВР від 4 квітня 1996 року.
2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за №53/17348.
3. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації // За ред. О.В. Стефанова. – Київ, 2001.- 527 с.
5. ЕМА/CPMP/ICH/286/1995 (ICH guideline M3(R2)) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, December

2009» (Доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів – грудень 2009).

6. ДСТУ 1.5-2003. - Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів/І Фширова, О.Брянська, Є.Козир, Я.Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
7. ДСТУ 1.7-2001. – Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів/О. Одноколов, В. Тетера, Я. Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
8. ЕМЕА/P24143/2004 «Procedure for European Union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework, 2005» (Процедура щодо настанов та супутніх документів Європейського Союзу в рамках фармацевтичного законодавства, 2005).
9. Клинические испытания лекарств / под . ред. В.И. Мальцева, Т.К. Ефимцевой, Ю.Б. Белоусова, В.Н. Коваленко. – К.: Морион – 2002. – 358 с.;
10. Миронов А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - Москва 2012. – с. 197-219.

Допоміжна.

1. Порядок видачі дозволу на використання та впровадження у виробництво лікарських засобів//Наказ МОЗ України № 152 від 18.08.1995 р.
2. Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных. – М.; 1980. – 172 с.;
3. Гигаури В.С., Долгов В.В., Павлова Т.Л. Этические требования к работе с экспериментальными животными – Л.: ЦОПИУВ, 1897. – 18 с.;
4. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований / З.К. Бландова, В.А. Душкин., А.М. Малащенко, Е.Ф. Шмидт. – М.: НАУКА , 1983. – 190 с.;
5. Проблема нормы в токсикологии «Современное представление и методические подходы, основные параметры и константы»/ И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко, - М.: Медицина, 1991. – 208 с.;
6. Ковтун Л.И. Організація системи подання інформації про побічну лікарських засобів// Вісн. Соц. Гігієни та ОЗО України. – 2007. - №2. – С.60-64.
7. Інформаційні ресурси Настанов. Лікарські засоби Належна виробнича практика – www.dec.gov.ua/site/file.uploads/ua/new,doc/nvp.doc

Тема 2. Характеристика доклінічних та клінічних фаз досліджень

В Україні доклінічні дослідження проводяться відповідно до статті 6 Закону України «Про лікарські засоби», «Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та Настанови з належної лабораторної практики. Дослідження рекомендовано планувати таким чином, щоб забезпечити якомога швидкий, надійний і економічний перехід від доклінічного вивчення до клінічних випробувань та запровадження його в медичну практику. Одночасно для адекватної оцінки ризиків використання нового лікарського засобу щодо організму людини рекомендується розробити належну стратегію доклінічних досліджень, яка б, наскільки це можливо, враховувала необхідність дотримання принципу максимального обмеження ризиків від самого початку застосування у людини, стосовно кожної фази клінічних випробувань, а також під час терапевтичного застосування. Для створення сучасних положень щодо стандартизації планування та проведення доклінічного вивчення у Європейському Союзі (ЄС) введено керівництво ЕМА/CPMP/ICH/286/1995 (ICH M3(R2)) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals». Існуючі нормативні рекомендації сприяють безпеці, вдосконаленню

принципів етики (включаючи зменшення використання лабораторних тварин) та прискоренню впровадження нових лікарських засобів в медичну практику. Такі рекомендації повинні співставляються з положеннями відповідної настанови ЄС. Настанови із доклінічних випробувань розроблені на підставі керівництва з доклінічного дослідження безпеки лікарських засобів: ЕМА/CPMP/ICH/286/1995 (ICH M3(R2)) «Guideline on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals - December 2009» (Доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів – грудень 2009).

Розробка лікарського засобу є поетапним процесом, що включає отримання даних щодо його безпеки та оцінку ефективності препарату на тваринах і людях. Завдання доклінічної оцінки безпеки зазвичай включають характеристику токсичного впливу на органи-мішені, дозозалежність, взаємозв'язок з експозицією, і, за необхідності, потенціал зворотності дії. Ці дані використовуються для встановлення безпечної стартової (початкової) дози, діапазону доз для клінічних випробувань, а також визначення параметрів клінічного моніторингу потенційних побічних ефектів. Незважаючи на те, що на початку клінічних випробувань доклінічні дослідження безпеки, як правило, обмежені, проте вони мають бути достатніми для встановлення потенційного негативного впливу, що може виникати при проведенні клінічних випробувань. Клінічні випробування проводяться для вивчення ефективності й безпеки препарату, починаючи з відносно низького рівня системної дії на невеликій кількості осіб. В подальших клінічних дослідженнях експозиція лікарського засобу, як правило, зростає шляхом збільшення її тривалості та/або розміру популяції пацієнтів. Клінічні випробування можуть бути розширені на основі даних про безпеку, отриманих у попередньому(х) клінічному(их) випробуванні(ях), а також додаткових даних доклінічного вивчення безпеки, що стали доступними в процесі проведення поточних клінічних випробувань. СТ-Н МОЗУ 42 – 6.0:2014 7 Виявлення серйозного негативного ефекту препарату за результатами клінічних або доклінічних досліджень може впливати на тривалість клінічних випробувань. В межах загального клінічного вивчення ці дані можуть бути використані для визначення доцільності та особливостей дизайну додаткових доклінічних та/або клінічних досліджень.

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних та клінічних досліджень
- Значення доклінічних досліджень для створення нових лікарських засобів, розробки стратегій лікування та прогнозування захворювань

Вміти:

- Охарактеризувати завдання I фази доклінічних досліджень потенційних лікарських засобів
- Мати уявлення про II та III фази клінічних випробувань потенційних лікарських засобів
- Розуміти значення IV фази досліджень для оцінки відділених результатів впливу лікарських речовин на організм людини
- Застосовувати отримані теоретичні знання з фармакодинаміки та фармакокінетики лікарських засобів в практичній медицині

Література:

1. Закон України «Про лікарські засоби» (із змінами) №124/96ВР від 4 квітня 1996 року.

2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за №53/17348.
3. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації // За ред. О.В. Стефанова. – Київ, 2001.- 527 с.
5. ЕМА/CPMP/ICH/286/1995 (ICH guideline M3(R2)) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, December 2009» (Доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів – грудень 2009).
6. ДСТУ 1.5-2003. - Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів/І Фширова, О.Брянська, Є.Козир, Я.Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
7. ДСТУ 1.7-2001. – Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів/О. Одноколов, В. Тетера, Я. Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
8. ЕМЕА/P24143/2004 «Procedure for European Union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework, 2005» (Процедура щодо настанов та супутніх документів Європейського Союзу в рамках фармацевтичного законодавства, 2005).
9. Клинические испытания лекарств / под . ред. В.И. Мальцева, Т.К. Ефимцевой, Ю.Б. Белоусова, В.Н. Коваленко. – К.: Морион – 2002. – 358 с.;
10. Миронов А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - Москва 2012. – с. 197-219.

Допоміжна.

1. Порядок видачі дозволу на використання та впровадження у виробництво лікарських засобів//Наказ МОЗ України № 152 від 18.08.1995 р.
2. Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных. – М.; 1980. – 172 с.;
3. Гигаури В.С., Долгов В.В., Павлова Т.Л. Этические требования к работе с экспериментальными животными – Л.: ЦОПИУВ, 1897. – 18 с.;
4. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований / З.К. Бландова, В.А. Душкин., А.М. Малащенко, Е.Ф. Шмидт. – М.: НАУКА , 1983. – 190 с.;
5. Проблема нормы в токсикологии «Современное представление и методические подходы, основные параметры и константы»/ И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко, - М.: Медицина, 1991. – 208 с.;
6. Ковтун Л.И. Організація системи подання інформації про побічну лікарських засобів// Вісн. Соц. Гігієни та ОЗО України. – 2007. - №2. – С.60-64.
7. Інформаційні ресурси Настанова. Лікарські засоби Належна виробнича практика – www.dec.gov.ua/site/file.uploads/ua/new,doc/nvp.doc

Тема 3. Сертифікація експериментальних лабораторій для проведення доклінічного етапу дослідження фармакологічних речовин. Вимоги до лабораторного обладнання та метрологічний контроль.

Основою будь-якого успішного доклінічного дослідження є принципи вдалого планування (створення дизайну дослідження), раціонального розподілення часу та ресурсів, а головне дотримання принципів доброчесності у виконанні самого дослідження та на етапі

представлення отриманих даних в публікаціях. Для цього необхідно звернути увагу на сертифікацію експериментальних лабораторій, які обрані для проведення дослідження, що проводиться згідно вимог метрологічної служби України, а також визначити прилади та лабораторне устаткування яке належним чином може оцінити максимальний ефект. В Україні головним нормативним документом, який регулює порядок сертифікації науково-дослідних лабораторій є ДСТУ 3412-96, розроблений Українським державним науково-виробничим центром стандартизації, метрології та сертифікації і Українським науково-дослідним інститутом стандартизації, сертифікації. Стандарт розроблено з урахуванням вимог настанов ISO/IEC та європейських стандартів в галузі сертифікації. Цей стандарт встановлює загальні вимоги до випробувальних лабораторій, що акредитуються в Системі сертифікації УкрСЕПРО. Також обов'язковим є акредитація та переакредитація науково-дослідних лабораторій, з обов'язковою видачею свідоцтва про технічну компетентність. Зазвичай лабораторії можуть отримувати цей сертифікат строком від 1 до 5 років.

Нормативні документи

- ДСТУ 2462—94 Сертифікація. Основні поняття. Терміни та визначення
- ДСТУ 2708—94 Повірка засобів вимірювальної техніки. Організація і порядок проведення
- Настанова ISO/IEC 25:1990 Загальні вимоги до компетенції випробувальних та перевірних лабораторій
- EN 45001:1989 Загальні вимоги до діяльності випробувальних лабораторій.

Також не зайвим буде ознайомлення з загальними вимогами до випробувальної техніки в НДЛ. Основною вимогою, що пред'являється є повна незалежність лабораторій та неможливість втручання сторонніх осіб в проведення дослідження. Випробувальна лабораторія повинна мати юридичний статус, організаційну структуру, адміністративну підпорядкованість, фінансовий стан та систему оплати праці співробітників, що забезпечують необхідну впевненість у тому, що вона визнається об'єктивною та незалежною від розробників, виробників та споживачів з усіх питань оцінювання показників, що підтверджуються під час сертифікації конкретної продукції. Випробувальна лабораторія повинна забезпечувати технічну компетентність під час проведення випробувань у галузі акредитації, що визнана. Випробувальна лабораторія повинна мати керівника, який несе відповідальність за діяльність лабораторії та результати її роботи. Кожний співробітник лабораторії повинен бути компетентним щодо закріпленої сфери діяльності, а також знати свої права та обов'язки.

Випробувальне обладнання та засоби вимірювальної техніки

Випробувальна лабораторія повинна мати обладнання, яке необхідне для проведення випробувань, та засоби вимірювальної техніки для усіх параметрів, що визначені галуззю акредитації. Випробувальне обладнання та засоби вимірювальної техніки повинні відповідати вимогам нормативних документів на методи випробувань, відповідно до яких акредитується лабораторія. Усе обладнання та засоби вимірювальної техніки повинні утримуватися в умовах, що забезпечують їх зберігання та захист від пошкоджень та передчасного зношування. Для обладнання, яке потребує періодичного технічного обслуговування, повинні бути розроблені та затверджені інструкції та графіки з технічного обслуговування, а для засобів вимірювальної техніки — графіки повірки. Кожна одиниця випробувального обладнання та засобів вимірювальної техніки повинна бути зареєстрована. Реєстраційний документ (лист, карта та ін.) на кожну одиницю повинен містити такі відомості:

- назву та вид;
- підприємство-виробник (фірма), тип (марка), заводський та інвентарний номери;
- дату виготовлення, дату одержання та введення до експлуатації;
- стан на час купівлі (новий; той, що був у вжитку; після ремонту та ін.);
- місце розташування (в разі необхідності);
- дані про несправності, ремонти та технічне обслуговування;

— дані про повірки.

Усе випробувальне обладнання та засоби вимірювальної техніки повинні бути атестовані та повірені. Порядок атестації та повірки у випробувальній лабораторії повинен бути документально оформлений і відповідати вимогам, що встановлені чинними нормативними документами.

Необхідно звернути увагу на сертифікати приладів, а також представити пакет документів в метрологічну службу установи де проводиться дослідження. Однією з необхідних практичних навичок цього заняття є належне оформлення документів для подачі на експертизу в метрологічну службу.

Знати:

- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження
- Нормативні акти які регулюють порядок роботи та акредитації науково-дослідних лабораторій.
- Вимоги до лабораторного устаткування та правила роботи з ним
- Вимоги до атестації та метрологічний контроль вимірювальної техніки.

Вміти:

- Інтерпретувати та аналізувати інформацію з використанням новітніх інформаційних технологій
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Застосовувати отримані теоретичні знання з фармакодинаміки та фармакокінетики лікарських засобів в практичній медицині

Література:

1. ДСТУ 3412-96. Система сертифікації УкрСЕПРО. Вимоги до випробувальних лабораторій та порядок їх акредитації
2. ДСТУ 2462—94 Сертифікація. Основні поняття. Терміни та визначення
3. ДСТУ 2708—94 Повірка засобів вимірювальної техніки. Організація і порядок проведення
4. Настанова ISO/IEC 25:1990 Загальні вимоги до компетенції випробувальних та перевірних лабораторій
5. EN 45001:1989 Загальні вимоги до діяльності випробувальних лабораторій.

Тема 4. Основні вимоги до вибору виду лабораторних тварин. Способи отримання лабораторних тварин. Належне утримування та біоетичні аспекти роботи з лабораторними тваринами.

БІОЛОГІЧНІ тест-системи. Необхідно створити та підтримувати належні умови для утримання, обробки та догляду за тваринами, рослинами, мікроорганізмами, а також іншими клітинними і субклітинними системами з метою забезпечення належної якості даних. Крім того, умови повинні відповідати національним регламентуючим вимогами стосовно ввозу, збору, догляду та використанню тварин, рослин, мікроорганізмів, а також інших клітинних та субклітинних систем.

Кількість досліджуваних доз та тварин визначається програмою протоколу, вимогами статистики, тривалістю експерименту. Виходячи із зручності у поводженні, економічних

факторів та наявності достатньої бази даних, найчастіше використовуються миші, щури, кролі, морські свинки та собаки. Серед гризунів перевага надається щурам. В табл. 1 наведені вік та маса тіла дорослих тварин, які найчастіше використовуються в токсикологічних дослідженнях. Якщо фармакологічний засіб пропонується для використання в педіатричній або геріатричній практиці, доклінічні дослідження токсичних властивостей проводяться відповідно на статевонезрілих або старих тваринах. Враховуючи варіабільність біологічних тест-систем, завжди необхідно дотримуватись балансу між кількістю тварин, теоретично необхідною для визначення всіх щонайефективніших ефектів, та кількістю, достатньою для визначення суттєвих токсичних ефектів. При випробуванні нових речовин з невідомими біологічними властивостями часто виникають непередбачені прояви токсичної дії, що потребує проведення додаткових досліджень або збільшення кількості тварин.

Умови утримання тварин

Дослідження повинні проводитись в умовах контролю за факторами довкілля. Необхідно підтримувати температуру та відносну вологість повітря у відповідних межах, цикл чергування світла та темряви - протягом 12 год кожний. Раціон та якість води мають бути стандартними, відповідати всім вимогам харчування для даного виду тварин і постійно контролюватись. Необхідно враховувати вплив режиму харчування на метаболізм та тривалість життя, а також розвиток клінічних проявів токсичності. Доступ до води - необмежений. Тварини повинні утримуватись групами за статтю або індивідуально в залежності від виду та розміру, а також з урахуванням вимог окремих досліджень. Гризуни можуть розміщуватись в клітках групами, зазвичай не більше трьох в клітці, забезпечуючи можливість огляду кожної тварини. Біологічні властивості досліджуваної речовини та її токсичні ефекти (наприклад, загибель, зростання збудливості та ін.) є свідченням необхідності індивідуального розміщення. Великі тварини, наприклад, кролі, звичайно, утримуються індивідуально.

Утримання, розміщення та догляд за біологічними тест-системами. За мету ставиться визначення наявності в лабораторії додаткових приміщень та забезпечення умов утримання, розміщення та догляду за тваринами або іншими біологічними тест-системами, якщо такі використовуються при проведенні випробувань, виключення можливості дії стресу або іншого негативного впливу на біологічні тест-системи і, відповідно, на якість результатів випробування. У лабораторії можуть проводитись випробування, що потребують використання різноманітних видів тварин і рослин, а також мікробних або інших клітинних та субклітинних систем. Тип тест-систем, що використовуються в експерименті, визначає умови її утримання, розміщення та догляду, адекватність чого є предметом перевірки інспектором. Залежно від типу тест-системи інспектор визначає доцільність перевірки наступного:

- адекватності наявних служб догляду за тест-системами, що використовуються при проведенні даного випробування;
- наявності належних умов для забезпечення карантину для отриманих ззовні тварин та рослин;
- дотримання ізоляції тварин (або, при необхідності, інших елементів тест-системи) хворих або таких, що можуть бути хворими або переносниками захворювань;
- проведення адекватного контролю за здоров'ям, поведінкою або іншими критеріями, що застосовуються для оцінки стану даної тест-системи, з відповідною реєстрацією результатів спостереження;
- належного обслуговування та ефективної роботи устаткування для підтримки умов

середовища у приміщенні, необхідних для відповідної тест-системи;

- дотримання достатньої чистоти кліток, стелажів, резервуарів та інших ємкостей для розміщення тварин і допоміжного устаткування;

- забезпечення проведення аналізів для перевірки умов утримання тест-систем;

- наявності служби для вилучення та знищення відходів тест-систем, ефективність їх функціонування та здатність зведення до мінімуму можливості зараження гельмінтами, присутності запахів, небезпеки захворювання та забруднення навколишнього середовища;

- наявності приміщень для зберігання кормів для тварин або подібних матеріалів для тестсистем; чи не використовуються ці площі для зберігання інших матеріалів (досліджувані речовини, хімікати для боротьби з комахами або дезинфікуючі засоби), які мають бути ізольовані від приміщень розміщення тварин або інших біологічних тест-систем; - захищеності кормів та підстилки для тварин від зараження, забруднення або псування внаслідок дії несприятливих умов довкілля.

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних досліджень
- Основні правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами та альтернативними системами *in vitro*)
- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів в системі *in vitro*, *in vivo*, *in silico*
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження

Вміти:

- Інтерпретувати та аналізувати інформацію з використанням новітніх інформаційних технологій
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Виконувати оригінальне наукове дослідження
- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами

Література:

1. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за №53/17348.
2. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
3. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. – Strasbourg: Council of Europe. – 1986. – № 123. – 52 p.
4. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, Б.В. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
6. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 01.11.2001.- N 441

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації // За ред. О.В. Стефанова. – Київ, 2001.- 527 с.
8. Биоэтика. Альтернативы экспериментов на животных/ А.С. Лукьянов, Л.Л. Лукьянова, Н.М. Чернявская, С.Ф. Гилязов. – М.: МГУ; 1996 – 253 с.;
9. Абдрашитова Э.Х., Зайцев Т.И., Комаровская Т.П. Стандартизация лабораторных животных по состоянию здоровья//Ламинология. – 1993. – №1. – С.7-12;
10. Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных. – М.; 1980. – 172 с.;
11. Гигаури В.С., Долгов В.В., Павлова Т.Л. Этические требования к работе с экспериментальными животными – Л.: ЦОПИУВ, 1897. – 18 с.;
12. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований / З.К. Бландова, В.А. Душкин., А.М. Малащенко, Е.Ф. Шмидт. – М.: НАУКА, 1983. – 190 с.;
13. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: учебное пособие// И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария и др. – К.: Вища школа, - 1983. – 383 с.; 21
14. Проблема нормы в токсикологии «Современное представление и методические подходы, основные параметры и константы»/ И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко, - М.: Медицина, 1991. – 208 с.;

Тема 5. Визначення основних терапевтичних та хірургічних маніпуляцій. Шляхи введення ліків в організм лабораторних тварин.

Стандартні операційні процедури (СОП)

Стандартні операційні процедури розробляються на всі виробничі операції, включаючи: надходження, ідентифікацію, маркування, відбір проб, використання та зберігання досліджуваних та стандартних сполук; обслуговування та калібровку вимірювальних приладів та обладнання; приготування реактивів, поживних середовищ, ведення записів, звітів та їх зберігання; ідентифікацію та догляд за тест-системами; поводження із тест-системами; утилізація тест-систем; здійснення програми по забезпеченню якості.

Дотримання СОП здійснюється з метою забезпечення якості, достовірності та відтворюваності результатів дослідження.

Кожна лабораторія з доклінічної оцінки дії лікарських засобів зобов'язана мати перелік необхідних СОП, які регламентують процедуру поведіння хірургічних та інших втручань та оцінку дії лікарських засобів. Кожне випробування, а також всі його етапи повинні бути чітко визначеними. Випробування повинні проводитися згідно з протоколом.

Розчинники та носії

При необхідності досліджувана речовина розчиняється або суспендується з використанням відповідного розчинника, переважно води, фізіологічного розчину або 0,5 % водного розчину метилцелюлози. Якщо розчинення або суспендування до гомогенної форми у водному середовищі неможливе, використовується рослинна олія, водний розчин етанолу, нропіленгліколь та інші розчинники. Для приготування суспензій можуть використовуватись магнітні мішалки, мікрмлини та гомогенізатори. Іноді для одержання гомогенних суспензій використовуються такі поверхнево активні речовини, як Tween 80, Span 20, Span 60. У зв'язку з можливим впливом розчинника на токсичність необхідно включати групу тест-системи для контролю розчинника.

Шлях введення

При дослідженні фармакологічних речовин обов'язковим є шлях введення, який передбачається для клінічного використання, та такий, що забезпечує системну дію досліджуваної речовини (напр., внутрішньовенний)" У табл. 1 наведено рекомендовані об'єми рідини в залежності від шляху введення експериментальним тваринам різних видів потенційних лікарських засобів.

Таблиця 1

Об'єми рідин/розмір голки, рекомендовані для парентеральних введення

Види тварин	Шляхи парентерального введення			
	внутрішньовенний (вена)	Внутрішньо-очеревинний	Внутрішньо-м'язовий (м'яз)	підшкірний
Миші	Латеральна хвостова 0,2 мл/<25	2-3 мл/<21	Чотириглавий задній стегна, 0,05 мл/<23	Задня частина шиї, 2-3 мл/<20
Щури	Латеральна хвостова, 0,5 мл/<23	5-10 мл/<21	Чотириглавий задній стегна, 0,3 мл/<21	Задня частина шиї, спина, 5-Ю мл/<20
Кролі	Крайова вушна вена, 1-5 мл/<21	50-100 мл/<20	Чотириглавий задній стегна, 0,5-1,0 мл/<20	Задня частина шиї, спина, 30-50 мл/<20
Морські свинки	Вушна, підшкірна ноги, 0,5 мл/<23	10-15 мл/<21	Чотириглавий задній стегна, 0,3 мл/<21	Задня частина шиї, спина, 5-10 мл/<20

При дослідженні гострої токсичності готової лікарської форми, яка містить низьку концентрацію діючої речовини, часто виникає необхідність введення тваринам максимально припустимих об'ємів розчинів (суспензій, емульсій) досліджуваної речовини (табл. 2.)

Таблиця 2

Максимально допустимі об'єми (мл) рідин для різних шляхів введення тваринам

Вид тварини	Маса тіла, г	в/ш	п/ш	в/м	в/в	в/оч	в/шл	Внутрішньо-назально	Ректально
Миші	25-30	0,05	1,0	0,5	0,2-0,5	1,0	0,8	0,1	0,5
Щури	200-240	0,02-0,04	10,0	5,0	2,0	5,0	4,0-5,0	0,4	1,0
Кролі	2500-3000	-	30,0	15,0	20,0	20,0-30,0	150,0	1,0-4,0	5,0-10,0
Морські свинки	250-300	-	15,0	5,0	5,0	5,0	4,0-5,0	0,2-0,4	4,0

Пероральне та внутрішньошлункове введення. Досліджувана речовина або її розчин (емульсія, суспензія) з використанням відповідного розчинника дозовано вводиться в стравохід за допомогою градуйованого зонда (для кожної групи використовується одна доза). Максимальний об'єм рідини, який може бути введений одноразово, залежить від виду експериментальної тварини. У гризунів він не повинен перевищувати 10 мл/кг маси тіла за винятком води, яку можна вводити з розрахунку 20 мл/кг . Варіації з об'ємом досліджуваної речовини мають бути мінімальні. Забезпечення постійного об'єму при різних рівнях доз

досягається регуля

Інтраназальне введення. При інтраназальному введенні використовується тонкий катетер, діаметр якого залежить від розмірів тварини. Для дрібних тварин можна використовувати мікропіпетки або ін'єкційні голки із сточеним кінцем. Оскільки ця процедура неприємна для тварини, рекомендується проводити її під легким наркозом.

Ректальне введення. Перед введенням препаратів в пряму кишку собакам, кішкам, кролям, морським свинкам ставлять очисну клізму. Розчини вводять за допомогою катетера. Для ректального введення препаратів дрібним тваринам використовують зонд або мікропіпетку, тварина при цьому утримується вниз головою. Розчин, що вводиться, попередньо підігрівається.

Внутрішньовенне введення. Незалежно від рекомендованого в клініці застосування фармакологічного засобу, хоча б на одному виді тварин доцільно провести дослідження гострої токсичності при внутрішньовенному введенні. У разі використання лікарського засобу у вигляді мазі або гелю, який не проникає через шкіру та слизові оболонки, дослідження токсичності при внутрішньовенному введенні не проводяться. При вивченні інших засобів для зовнішнього застосування такі випробування є необхідними. Внутрішньовенні ін'єкції котам, морським свинкам та хом'якам вимагають відпреіаровки судин, тому проводяться під загальним наркозом. Порівняння параметрів токсичності при внутрішньовенному та інших шляхах введення, наприклад, нашкірному або пероральному, дає змогу встановити ступінь резорбції речовин через шкіру та травний шлях. Внутрішньовенний шлях введення на дрібних гризунах може бути замінений на внутрішньоочеревинний.

Нашкірна аплікація. За 24 години до нанесення на шкіру досліджуваної речовини шерсть на боковій поверхні тіла експериментальної тварини видаляється стрижкою або голінням. Цю процедуру слід виконувати обережно, щоб не пошкодити шкіру, що може збільшити її проникність для досліджуваної речовини. Площа для аплікації повинна складати не менше 10 % загальної поверхні тіла, яка розраховується виходячи з маси тіла тварини. Для нанесення досліджуваної речовини може використовуватись пульверизатор. Розчинник повинен забезпечувати достатній контакт зі шкірою. Якщо досліджувана речовина є рідиною, вона, як правило, використовується без попереднього розчинення.

Підшкірне та внутрішньом'язове введення. Зазначені шляхи введення є найменш травматичними для тварин і здійснюються відносно просто - шляхом введення визначених в табл. 3 об'ємів. При необхідності дотримання стерильності шерсть в місці введення видаляється голінням і шкіра дезінфікується. У собак та котів підшкірні ін'єкції слід проводити в ділянці потилиці, у кролів та дрібних тварин - в зоні спини та боку, у морських свинок переважно збоку. Оскільки підшкірний шлях введення дає можливість використовувати досить значні об'єми речовин, доцільно проводити ін'єкції в кількох місцях.

Внутрішньошкірне введення. Для цього шляху аплікації звичайно використовується задня частина спини тварини. На місці введення препарату видаляється шерсть. Цілісність покриву шкіри порушується ніляхом нанесення подряпин голкою або наждачним папером (поява крові не допускається). На підготовану таким чином ділянку шкіри наноситься досліджувана речовина. Внутрішньоочеревинне введення. Критерії токсичності, отримані при використанні даного шляху введення, близькі до отриманих при внутрішньовенній ін'єкції. Таке введення слід проводити з великою обережністю, щоб не ушкодити кишечник.

Інгаляційне введення. Інгаляційне введення досліджуваної речовини вимагає використання обладнання, здатного забезпечити динамічний потік повітря (12 - 15 змін на

годину), 19 % вміст кисню та відповідний атмосферний тиск. При цьому загальний об'єм експериментальних тварин повинен складати не більше 5 % від загального об'єму камери. При використанні динамічної інгаляційної системи для аналізу концентрації досліджуваної речовини необхідна наявність відповідної контролюючої системи.

Знати:

- Правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами)
- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Методики введення та кількості речовин, які можна вводити різними шляхами лабораторним тваринам
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів в системі *in vitro*, *in vivo*, *in silico*
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження

Вміти:

- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами
- Вводити досліджувані речовини в організм лабораторних тварин
- Використовувати отримані знання із фундаментальної біології та практичної медицини при проведенні терапевтичних та хірургічних маніпуляцій
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження

Література:

1. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. – Strasburg: Council of Europe. – 1986. – № 123. – 52 p.
2. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с
3. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с.
4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, Б. В. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
5. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 01.11.2001. - N 441
6. Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів (затверджений наказом МОЗ України №944 від 14.12.2009)
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації // За ред. О.В. Стефанова. – Київ, 2001.- 527 с.
8. Stark D.M., Ostrow M.E. Training Manual Series Assistant Laboratory Animal Technician. American Association for Laboratory Animal Science, 1991.- V.I.- P. 188.
9. Guide to the Care and Use of Experimental Animals.- Canadian Council on Animal Care.- Ottawa, 1984. - P. 120
10. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А., Пилипенко Ю.А. Экспресс-метод для определения среднесмертельных доз химических веществ//Гиг. и сан.- 1985.- №6.- С.

11. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты//Токсикол. вестн.- 1998.- №1.- С. 28-32.
12. Litchfield J.T. Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments// J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1949.- V. 96.- P. 99-115.
13. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных химических веществ.- М.: Медицина, 1973.- Вып. 3.- 47 с.
14. Порядок видачі дозволу на використання та впровадження у виробництво лікарських засобів//Наказ МОЗ України № 152 від 18.08.1995 р.
15. Бессмертный Б.С. Математическая статистика в клинической, профилактической и экспериментальной медицине.- М.: Медицина, 1967.
16. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии. - М., 1991.- 208 с .
17. Рыболовлев Ю.П., Сидяров Д.П., Афонин Н.И.//Токсикологические аспекты безопасности готовых лекарственных форм.- М., 1982.- С. 9.
18. Stevens K.R., Gallo M.A. Practical considerations in the conduct of chronic toxicity studies// Principles and Methods in Toxicology/Ed. by A.W.Hayes.- New York: Raven Press, Ltd., 1989.P. 237-250.

Тема 6. Належна лабораторна практика (GLP). Нормативно-правова документація для роботи дослідника на доклінічній та клінічній фазах. Настанова: «Лікарські засоби, доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів (ICH M3(R2)) ст-н МОЗУ 42 – 6.0:2014

Система правил Належної Лабораторної Практики, Good Laboratory Practice (GLP) спрямована на забезпечення якості та достовірності даних, отриманих в результаті проведення досліджень. Принципи GLP є адміністративною концепцією, яка охоплює організаційний процес та умови, за яких лабораторні випробування плануються, виконуються, забезпечується їхній моніторинг, здійснюється реєстрація та зберігання даних, надається звіт про результати випробувань. З метою запобігання використанню різних схем випробувань, що могло б перешкоджати міжнародній торгівлі в галузі хімічних речовин, країни-учасники ОЕСР проголосили необхідність міжнародної уніфікації методів випробувань та використання принципів GLP. Використання принципів GLP є надзвичайно важливим для національних органів та відомств, відповідальних за оцінку даних випробувань та визначення небезпечності хімічних сполук. Питання якості таких даних має міжнародне значення. Можливість покладатись на результати випробувань, виконаних в інших країнах, дозволяє уникнути дублювання досліджень та зайвих витрат. Більше того, принципи і методи GLP полегшують обмін інформацією та запобігають виникненню нетарифних бар'єрів для торгівлі. Правила GLP для неклінічних лабораторних випробувань, опубліковані в США Управлінням з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів (FDA) у 1976 р., стали основою для роботи експертної групи, створеної ОЕСР в рамках спеціальної програми з контролю за хімічними речовинами. В ній взяли участь такі країни та організації, як Австралія, Австрія, Бельгія, Великобританія, Греція, Данія, Італія, Канада, Нідерланди, Нова Зеландія, Норвегія, США, Франція, ФРН, Швейцарія, Швеція, Японія, Комісія Європейського співтовариства, Всесвітня організація охорони здоров'я, Міжнародна організація зі стандартизації (ISO/CERTICO).

До глобальних світових досягнень науково-технічного прогресу належить система Надійної Лабораторної Практики (Good Laboratory Practice - GLP). Міжнародне поширення GLP, яка запроваджує уніфікацію умов, що охоплюють практично всі етапи експерименту, та сприяє суттєвому зростанню рівня організації досліджень, метою яких є обґрунтування безпечності біомедичних розробок, що пропонуються до широкого використання, безумовно, є значною подією в історії доклінічної практики створення лікарських засобів. Обсяг досліджень загальної токсичності обумовлюється належністю препарату до відповідної групи лікарських засобів, рубрикація яких представлена в Інструкції про порядок проведення спеціалізованої оцінки та експертизи матеріалів на лікарські засоби у Державному науково-експертному центрі лікарських засобів МОЗ України (наказ МОЗ України № 246 від 08.10.99).

Принципи GLP, сформульовані ОЕСР у 1981 р., передбачають застосування рекомендованих стандартів з проведення широкого кола випробувань і мають на меті регламентуючі та законодавчі цілі. Принципи GLP поширюються на великий діапазон комерційних хімічних препаратів, включаючи пестициди, фармацевтичні та косметичні засоби, промислові хімічні продукти. У звіті експертної групи, залученої до розробки принципів GLP, чітко перераховано типи випробувань, речовин (препаратів тощо), на які поширюються ці принципи, а саме:

- фізико-хімічні властивості;
- токсикологічні випробування, спрямовані на оцінку впливу (короткострокового та довгострокового) на здоров'я людини;
- екотоксикологічні випробування, спрямовані на оцінку виливу (короткострокового та довгострокового) на навколишнє середовище;
- екологічні випробування, спрямовані на оцінку хімічних перетворень у навколишньому середовищі (транспорт, біотрансформація і біоаккумуляція).

Найбільший досвід в дотриманні національними організаціями з моніторингу в країнах-членах ОЕСР вимог GLP на сьогодні накопичено в сферах, що належать до токсикологічних (неклінічних) випробувань. Вони традиційно вважаються надзвичайно важливими з огляду на охорону здоров'я, тому проведення токсикологічних випробувань є першочерговим завданням лабораторного випробування. Значну кількість критеріїв адекватного моніторингу в країнах-учасниках ОЕСР було розроблено на основі досвіду перевірок токсикологічних лабораторій. Непогано розроблені і методи моніторингу відповідності GLP для лабораторій, що виконують екотоксикологічні випробування. Для полегшення взаємного визнання експериментальних даних, які надаються уповноваженим органам країнами-учасниками ОЕСР, необхідна як гармонізація процедур контролю дотримання принципів GLP, так і можливість порівняння їх якості та суворого дотримання. Розроблено документи, які стали детальним практичним посібником щодо структури, механізмів та процедур створення взаємоприйнятних у державах-членах ОЕСР національних програм моніторингу відповідності принципам GLP. Представлений матеріал стосується переважно перевірки лабораторій та включає основну частину діяльності інспекторів GLP. Перевірка лабораторій зазвичай включає часткову перевірку випробувань або спостереження за ходом їх проведення, крім того, періодична перевірка випробувань проводиться на вимогу, наприклад, контролюючого органу. Перевірка лабораторій проводиться з метою визначення ступеню відповідності принципам GLP лабораторного устаткування та оснащення, необхідних для проведення випробувань, а також самих лабораторних випробувань; крім того, перевірка проводиться з метою визначення достовірності даних, достатніх для забезпечення належної якості остаточних даних, які дозволяють регулюючим органам

провести оцінку та прийняти відповідне рішення. У цьому документі формуються і визначаються загальні питання, пов'язані з організацією випробування, проведенням моніторингу відповідності, проведенням випробування, контролем якості випробування тощо відповідно до принципів GLP, впроваджених ОЕСР.

Знати:

- Акти міжнародного та українського законодавства, що регулюють проведення доклінічних досліджень
- Значення доклінічних досліджень для створення нових лікарських засобів, розробки стратегій лікування та прогнозування захворювань
- Основні принципи належної лабораторної практики
- Основні поняття та терміни, що застосовують при виконанні робіт та складанні звітів із GLP
- Порядок проведення короткотривалих досліджень
- Принципи виконання альтернативних методів дослідження токсичності лікарських засобів
- Можливості застосування принципів належної лабораторної практики при роботі із біологічно активними речовинами
- Визначення та принципи проведення стандартних операційних процедур (СОП) для виконання доклінічних досліджень

Вміти:

- Формулювати наукові гіпотези, мету і завдання наукового дослідження
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Інтерпретувати та аналізувати інформацію з використанням новітніх інформаційних технологій
- Підготувати проект стандартних операційних процедур при дослідженні окремих видів фармакологічної активності потенційних лікарських засобів
- Скласти навчальний протокол для проведення доклінічного дослідження
- Скласти зразок звіту про результати випробування
-

Література:

1. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
2. Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) series on Principles of Good Laboratory Practice and compliance monitoring. Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice (as reused in 1997). OECD Environmental Health and Safety Publications, Environment Directorate: ENV/MC/CHEM(98) 17. - Paris: OECD, 1998.
3. Adapting to technical progress the Principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC on the harmonisation of laws, regulations and administrative provisions relating to the application of the principles of good laboratory practice and the verification of their applications for tests on chemical substances. Commission Directive 1999/11/EC. //Official Journal of the European Communities.- 1999,- V. 77.- P. 8-21.
4. Environment Monograph No 50. Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring: Number 6//The Application of the GLP Principles to Field Studies. Paris: OECD, 1992.

5. Cooper-Hannan R. Good Laboratory Practice and study management for the validation of in vitro toxicity studies//ATLA.- 1997.- V.12- P. 527-537.
6. Survey of the QSAR and in vitro approaches for developing non-animal methods to supersede the in vivo LD₅₀ test/Phillips J.C, Gibson W.B. Yam, J. et al.//Food and Chem. Toxicol.- 1990.- V.28.- P. 375-394.
7. Correlation of acute lethal potency with in vitro cytotoxicity/Fry J.R., Garle M.J., Hammond A.H., Hatfield A.//Toxicol. in Vitro.- 1990.- V.4.- P. 175-178.
8. Garle M.J., Fentem J.H., Fry J.R. In vitro cytotoxicity tests for the prediction of acute toxicity in vivo//Toxicol. in Vitro.- 1994.- V.8.- P. 1303-1313.
9. Parish W. The future for acute oral toxicity testing//Animals and Alternatives in Toxicology -Present Status and Future Prospects/Ed. by M.Balls, J.Bridges, J.Southee.- New York: VCH Pub-lishers, 1991.- P. 19-20.
10. Cellular methods for identification of neurotoxic chemicals and estimation of neurotoxicological risk/Walum E/, Nordin M, Beckman M., Odiand L.//Toxicol. in Vitro.- 1993.- V.7.-P. 321-326.
11. Walum E., Varnbo I., Peterson A. A multiple cell-culture toxicity test system based on neuroblastoma C1300 cells and differentiated primary cultures of brain, muscle, heart, and liver cells//Food and Chem. Toxicol.- 1986.- V.24,- P. 567-568.
12. Gulden M. In vitro toxicity screening using cultured rat skeletal muscle cells. I. Surfactants and mitochondrial poisons//Toxicol. in vitro.- 1993.- V.7.- P. 25-34.
13. Gulden M., Seibert H., Voss, J.-U. In vitro toxicity screening using cultured rat skeletal muscle cells. II. Agents affecting excitable membranes//Toxicol. in vitro.- 1994.- V.8.- P. 197-206.

Тема 7. Доклінічні випробування: Вивчення параметрів токсичності, види токсичності, поняття про летальні дози. Способи визначення (LD₅₀)

Процес створення фармакологічних засобів потребує розробки нових підходів, удосконалення шляхів та порядку створення ефективних медичних препаратів з урахуванням нових досягнень в галузі науки та техніки. Зараз значно зросли вимоги щодо організаційних принципів на всіх етапах розробки, дослідження, запровадження та виробництва фармакологічних засобів. Це обумовлене необхідністю гарантувати високу якість виконання окремих стадій розробки ліків, зокрема, надійності результатів доклінічного вивчення їх безпечності. Більшість небажаних проявів побічної дії лікарських препаратів можна передбачити та попередити, виходячи з даних, одержаних в експериментах з використанням тест-систем. Досліди на тваринах дозволяють значною мірою гарантувати безпечність клінічних випробувань та наступного медичного застосування нових лікарських засобів. Сучасні програми доклінічного вивчення безпечності нових фармакологічних засобів в більшості розвинених країн суттєво не відрізняються одна від одної і суворо регламентуються відповідними органами охорони здоров'я.

При визначенні токсикологічних характеристик речовин (лікарських засобів) визначення гострої токсичності, як правило, є першим етапом, метою якого є одержання інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини для здоров'я в умовах короткотривалої дії. Ці дані можуть братись за основу для визначення класу токсичності і є першим кроком до встановлення режимів дозування при проведенні досліджень підгострої, хронічної, специфічної токсичності та інших випробувань, а також надавати первинну інформацію про токсичну дію речовини або фармакологічного препарату.

Визначення параметрів гострої токсичності дозволяє отримати необхідну інформацію для вирішення наступних завдань:

- встановлення рівня токсичності досліджуваної фармакологічної речовини та отримання даних щодо його токсикодинаміки;
- визначення співвідношення між дозою та негативними ефектами;
- визначення видової та статевої чутливості лабораторних тварин щодо дії досліджуваної речовини;
- встановлення параметрів токсичності для визначення доз при проведенні підгострих та хронічних експериментів та дослідження спеціальних видів токсичності;
- порівняльна оцінка токсичності досліджуваної речовини з найактивнішим з існуючих прототипів або аналогом, які використовуються в практичній медицині.

Вирішення цих завдань вимагає визначення основних параметрів токсичності речовин, а саме: середньосмертельної дози та її стандартної помилки ($DL_{50 \pm m}$), максимально переносимої дози (DL_0), а також DL_{16} та DL_{84} .

Дослідження гострої токсичності потенційних лікарських засобів необхідно проводити при трьох шляхах введення, серед яких обов'язковим є рекомендований для клінічного використання. Враховуючи можливість випадкових ситуацій, які спричиняють нещасні випадки, суїцидальні та кримінальні отруєння, доцільним є визначення гострої токсичності при пероральному шляху введення.

Незважаючи на те, що за даними гострої токсичності досліджувана речовина може не проявити ознак токсичності, пролонговане її введення, навіть в низьких дозах, часто здатне піти до розвитку інтоксикації внаслідок накопичення в організмі, метаболічних змін, порушення гомеостазу. Дослідження можливої небезпеки для здоров'я повторних введення речовини, що вивчається, проводиться на підставі первинної інформації, отриманої в гострому експерименті.

Дослідження підгострої токсичності передбачає одержання даних щодо токсичної дії речовини внаслідок введення її до тест-системи протягом обмеженого часу.

Метою субхронічних досліджень є визначення шкідливої дії повторних введення протягом певної частини тривалості життя експериментальних тварин. Належне планування субхронічного дослідження дає змогу одержувати цінну інформацію щодо кумулятивних властивостей речовини, впливу на органи та системи, а також переносимість даної речовини при невисоких (порівняно з гострою токсичністю) дозах за умов її введення протягом періоду, який не перевищує 10 % тривалості життя відповідного виду експериментальної тварини. Завдяки моніторингу різноманітних параметрів, включаючи гістопатологічний аналіз, ці дослідження дозволяють виявити різноманітні прояви шкідливої дії, а також визначити дози для вивчення хронічної токсичності, канцерогенності та впливу на репродуктивну функцію організму. Вважається, що дані субхронічної токсичності можуть бути достатніми для передбачення небезпечності тривалого введення окремих речовин в низьких дозах.

Необхідність вивчення хронічної токсичності визначається двома обставинами: по-перше, дослідження токсичних ефектів внаслідок проведення тривалих випробувань, а, по-друге, виявлення рівнів доз, при яких не спостерігається токсична дія за даних умов експерименту. На відміну від досліджень канцерогенності, які призначені для встановлення потенційних можливостей пухлиноутворення, вивчення хронічної токсичності використовує підходи до визначення природи шкідливої дії та включає визначення межі безпечності дози, запропонованої для медичного використання.

Результати вивчення хронічної токсичності на тваринах мають попередньо виявити прояви та симптоми шкідливої дії для людини, тому такі дослідження є обов'язковими для

лікарських засобів:

- оригінальних, тобто створених з використанням нових активних субстанцій або новою якісною (кількісною) комбінацією відомих активних субстанцій;
- відтворених за ліцензійною технологією;
- з новими допоміжними речовинами;
- з відтвореними допоміжними речовинами;

Знати:

- Сучасні принципи планування та виконання доклінічних досліджень
- Характеристику тест-систем,
- Види експериментальних тварин, умови їх утримання
- Основні терміни та поняття теми (середня ефективна доза, середня смертельна доза, речовина, що досліджується, препарат порівняння, середній час загибелі тварин, видова чутливість, терапевтичний індекс, тест-система) тощо.
- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Основні методики виконання дослідження гострої, підгострої, субхронічної та хронічної токсичності
- Методи визначення гострої токсичності лікарських засобів.
- Показники (фізіолого-біохімічні, патоморфологічні) гострої токсичності досліджуваних лікарських засобів
- Правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами)
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів в системі *in vitro*, *in vivo*, *in silico*

Вміти:

- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами
- Здійснювати вибір відповідного виду та кількості тварин
- Вибирати оптимальний шлях введення тестуємих препаратів, їх розчинники, об'єм розчинів для введення
- Оформляти документацію з реєстрації отриманих даних, а також робити звіт про результати дослідження
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів
- Проводити спостереження за тваринами при визначенні гострої токсичності, розпізнавати ознаки інтоксикації (зміни дихання, рухової активності, неврологічні розлади, судоми, офтальмологічні, серцево-судинні симптоми, саливація, пілоерекція, анальгезія, діурез, блювання, стан шкіри тощо).
- Визначати ЛД₅₀, оцінювати гостру токсичність речовини за класифікацією Сидорова.
- Проводити статистичну обробку даних, використовувати методи біостатистики та екстраполяцію одержаних результатів.
- Презентувати результати наукових досліджень у вигляді постерних доповідей, публікацій, мультимедійних презентацій

Література:

1. Commission of the European Communities: Council Directive of 18 December 1986 on the Harmonization of the Laws, regulating the Application of Principles of Good Laboratory Practice and the Verification of Their Applications for Tests on Chemical Substances (87/18/EEC). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community, 1991.- V. 1.- P. 145-146.
2. Stark D.M., Ostrow M.E. Training Manual Series Assistant Laboratory Animal Technician. - American Association for Laboratory Animal Science, 1991.- V.I.- P. 188.
3. Guide to the Care and Use of Experimental Animals.- Canadian Council on Animal Care.- Ottawa, 1984. - P. 120
4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте/ ИЛ. Западнюк, В.И. Западгаок, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк.- К.: Вища шк., 1983.- 383 с.
5. Пастушенко Т.В., Маруший Л.Б., Жуков А.А., Пилипенко Ю.А. Экспресс-метод для определения среднесмертельных доз химических веществ//Гиг. и сан.- 1985.- №6.- С. 46-47.
6. Comparison of the up-and-down, conventional LD₅₀, and fixed-dose acute toxicity procedures/Lipnick R.L, Cotruvo J.A., Hill R.N. et al.//Food and Chem. Toxicol.- 1995.- V.33.- P. 223-231.
7. Comparison of the in vitro toxicities of 59 chemicals/Clothier R.H., Hulme L.M, Smith M., Balls M.//Mol. Toxicol.- 1987. - V.I.- P.- 571-577.
8. Finney D.J. Probit Analysis.- 3rd edition, chapt. 3 and 4.- Cambridge: Cambridge University Press, 1971.
9. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты//Токсикол. вестн.- 1998.- №1.- С. 28-32.
10. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных химических веществ.- М.: Медицина, 1973.- Вып. 3.- 47 с.
11. Haseman J.K., Huff J., Boorman G.A. Use of historical control data in cancerogenicity studies in rodents//Toxicol. Pathol.- 1984.- V.12. - P. 126-135.
12. Рыболовлев Ю.П., Сидяров Д.П., Афонин Н.И.//Токсикологические аспекты безопасности готовых лекарственных форм.- М., 1982.- С. 9.

Тема 8. Способи прогнозування дії ліків в залежності від хімічної будови. PASS C&T (Prediction of Activity Spectra for Substances: Complex & Training). Дослідження *in vitro*, *in vivo* та *in silico*.

Щорічно хіміки синтезують, виділяють і характеризують більше 500 тисяч нових речовин. На початку 2013 р. кількість органічних сполук складала понад 27 млн. І більшість з них проходять первинні випробування на виявлення спектру біологічної активності. Проте цей підхід не гарантує виявлення всіх видів біологічної активності, які характерні для кожної конкретної речовини. Деякі з них виявляються пізніше як побічні токсичні ефекти. Реальну можливість комплексного дослідження біологічної активності речовин може забезпечити розвиток нових технологій комп'ютерного прогнозування. Цей напрямок виник на перетині органічної хімії, математичного моделювання та комп'ютерної хімії. Матеріали та методи. Для виявлення можливої біологічної активності досліджуваних сполук застосовували

комп'ютерну програму PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances - прогноз спектрів біологічної активності органічних сполук).

Теоретичні основи прогнозування біологічної активності Спектром біологічної активності вважається сукупність фармакологічних властивостей, біохімічних механізмів дії та видів специфічної токсичності, які речовина може виявляти при взаємодії з біологічними об'єктами. Прогнозування біологічної активності структур здійснюється переважно на основі аналізу зв'язку «структура-активність» або на основі моделювання зв'язування структур з відомою чи уявною мішенню. Основна мета комп'ютерного прогнозування – вибрати з великої кількості запропонованих структур декілька найбільш підходящих сполук (лідерів, lead) для подальшої експериментальної перевірки. Методи комп'ютерного прогнозування дозволяють швидко провести оцінку великої кількості структур на різні види біологічної активності. При цьому зазвичай не враховуються кількісні фактори, такі як об'єкт, доза, шлях введення та ін., а біологічна активність розглядається як внутрішня властивість речовини. Таким чином, здійснюється лише прогнозування наявності або відсутності певного виду активності. Звичайно, всі дані, отримані в результаті комп'ютерного моделювання, носять наближений, оціночний характер. Однією з основних проблем при комп'ютерному прогнозуванні є стратегія конструювання вихідних структур для оцінки біологічної активності. Один з найбільш поширених способів пошуку нових біологічно-активних речовин полягає в тому, що за основу приймають певну структуру і модифікують її. Цей підхід при реальному синтезі традиційно використовує хімія напівсинтетичних біологічно-активних речовин, яка, власне, на ньому і заснована, комп'ютерний прогноз використовує його на віртуальному рівні. Тому цей підхід можна назвати напівсинтетичним.

Для вирішення поставленого завдання конструювання вихідних структур і оцінки їх біологічної активності в рамках скаффолд-підходу пропонується:

1. Складання бази даних відомих скаффолдів і їх класифікація, а також виявлення нових скаффолдів.
2. Складання підбази даних відомих привілейованих скаффолдів, а також виявлення нових привілейованих скаффолдів на основі аналізу бази даних скаффолдів.
3. Складання алгоритмів модифікації привілейованих скаффолдів і розробка відповідної комп'ютерної програми.
4. Створення віртуальних комбінаторних бібліотек сполук для ряду привілейованих скаффолдів з використанням розроблених алгоритмів і комп'ютерної програми.
5. Розробка комп'ютерних програм для оцінки біологічної активності сполук.
6. Аналіз складених комбінаторних бібліотек на різні види біологічної активності з вибором лідерів для кожного виду активності.

Бази даних скаффолдів та інших блоків, комбінаторні бібліотеки сполук і комп'ютерні програми в області комп'ютерного прогнозування є інтелектуальною власністю їх розробників, які дуже обмежено розкривають методи, які вони використовують у своїй роботі. Разом з тим, в літературі описано досить велика кількість скаффолдів, а також методи комп'ютерного моделювання для оцінки біологічної активності сполук.

Таким чином, найважливішими вимогами до прогнозу біологічної активності хімічних сполук є:

- велика кількість і різноманітність прогнозованих видів біологічної активності;
- використання реальної навчальної вибірки, далекої по повноті інформації від ідеальної;

- здатність прогнозувати біологічну активність сполук різних хімічних класів з прийнятною точністю;
- використання мінімальної інформації про речовину, достатньої для прогнозу спектрів активності і навіть нових, ще не синтезованих, а тільки плануються до синтезу хімічних сполук;
- швидкодія, що дозволяє за прийнятний час виконувати прогноз і аналіз великої кількості хімічних сполук.

Комп'ютерна система PASS PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances – (прогноз спектру біологічної активності органічних сполук) - комп'ютерна система, розроблена співробітниками лабораторії структурно-функціонального конструювання ліків ГУ НДІ біомедичної хімії ім. В.Н. Ореховича РАМН під керівництвом професора В.В. Поройкова. Принцип дії системи заснований на аналізі взаємозв'язків «структура-активність» з використанням навчальної вибірки, що містить велику кількість різноманітних хімічних сполук з різними видами біологічної активності. Біологічна активність представлена в PASS якісно у вигляді спектра біологічної активності хімічної сполуки. Результат прогнозу представляється у вигляді впорядкованого списку назв відповідних активностей і ймовірностей P_a «бути активним» (active) і P_i «бути неактивним» (inactive). По різниці коефіцієнтів P_a - P_i можна робити висновки про можливу наявність у досліджуваної сполуки того чи іншого виду активності.

Програма має певні обмеження, зокрема прогноз активності можливий лише для низькомолекулярних органічних (drug-like) сполук, структура яких принципово не відрізняється від сполук навчальної вибірки. Таким чином, не може бути проаналізована потенційна активність синтетичних біополімерів та неорганічних сполук.

Інше обмеження визначається необхідністю наявності не менш ніж 5 сполук з відомою активністю для формування вибірки. Так, для принципово нових мішеней дії фармакологічних препаратів, для яких є інформація про 1-2 ліганда, прогнозування біологічної активності таким методом не можливе. У випадку принципової новизни хімічної структури по відношенню до навчальної вибірки (більше 3-х дескрипторів, які не зустрічаються у навчальній вибірці), результати прогнозу можуть мати суттєву похибку. В цьому випадку доцільно експериментально перевірити речовину на необхідні види активності, незалежно від результатів прогнозу, так як результатом може бути принципово нова базова структура (NCE).

У деяких випадках використання програми показує, що сполука є одночасно агоністом і антагоністом (стимулятором і блокатором, активатором і інгібітором) по відношенню до одних і тих самих ферментів (рецепторів). Це означає, що використання програми не забезпечує диференціювання внутрішньої активності сполуки, а лише вказує на її здатність зв'язуватися з даним ферментом (рецептором).

З використання програми PASS можна прогнозувати понад 4130 видів біологічної активності, в тому числі 501 фармакотерапевтичний ефект (наприклад, антигіпертензивний, гепатопротекторний, ноотропний та ін), 3295 механізмів дії (наприклад, антагоністи гідроксицитраміну, агоніст ацетилхоліну M1, інгібітор циклооксигенази та ін), токсичних ефектів (наприклад, канцерогенних, мутагенних, гематотоксичних та ін.), 199 метаболічних термінів (індуктор CYP1A, інгібітор CYP1A1, субстрат CYP3A4 та ін.) 49 транспортних білків (наприклад, інгібітор Р-глікопротеїну 3) та 29 активностей, пов'язаних з експресією генів (наприклад, підсилювач експресії TNF, інгібітор експресії TNF, інгібітор експресії VEGF). Середня точність прогнозу становить близько 95%.

З використанням PASS можна було передбачати 3300 видів активності в 2007 році, 2500 - у 2005 році, 541 - в 1998 р, і тільки 114 - в 1996 р. Навчальна вибірка PASS 9.1 містить 205873 відомих біологічно активних речовин (лікарських субстанцій; фармакологічних речовин, що вивчаються в клініці і в доклінічних тестах; токсичних речовин), в той час як в 1996 році навчальна вибірка містила тільки близько 9500 біологічно активних сполук. З 2000 року функціонує онлайн-сервіс PASS, який дозволяє будь-якому зареєстрованому користувачу отримувати безкоштовно прогноз PASS через Інтернет. Структурна формула направляється на прогноз у вигляді MOL файлу, або вводиться безпосередньо в Інтернет-браузері з використанням Marvin-аплета; результат прогнозу видається на дисплей.

Порівняння прогнозів PASS з результатами подальшого експериментального дослідження дає можливість провести незалежну оцінку 53 даного підходу на сполуках різних класів хімічних речовин, які виявляють різні види біологічної активності. В даний час опубліковано вже близько 50 публікацій, в яких передбачення PASS були підтверджені експериментально. Біологічна активність представлена в PASS якісно у вигляді спектра біологічної активності - комплексу усіх біологічних ефектів, які органічна сполука здатна викликати при деяких умовах взаємодії з біологічними об'єктами, без урахування особливостей конкретних експериментів. Кожна сполука має список тих видів активності, яке вона здатна проявити при відповідних умовах. При розрахунку вважається, що сполука не володіє тими видами біологічної активності, які не вказані в його спектрі.

Для прогнозу в PASS використовується SAR base, яка створюється на основі аналізу навчальної вибірки, що містить структурні формули і спектри активності органічних сполук. SAR base містить словник назв видів біологічної активності, словник дескрипторів MNA, опису структур і активностей речовин з навчальної вибірки, дані і знання про взаємозв'язки «структура-біологічна активність». При включенні органічних сполук навчальної вибірки в SAR base для кожної структурної формули генеруються дескриптори MNA. Якщо структуру молекули в повному обсязі визначено, то сполука не включається в SAR base. Якщо в SAR base виявляється еквівалентна структура, то існуючий спектр активності речовини доповнюється новими активностями.

Дані про взаємозв'язки «структура - біологічна активність» накопичуються в ході описаної нижче процедури вивчення. Алгоритм прогнозу PASS заснований на тому, що для кожного виду біологічної активності навчальна вибірка поділяється на позитивні і негативні приклади: органічні сполуки, що містять цю активність в своєму спектрі активності, є позитивними прикладами, а все іншими-негативних.

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних досліджень
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження
- Визначення та основні характеристики, що включає в себе PASS-прогнозування біологічної активності хімічних сполук
- Принципи проведення досліджень біологічної активності за допомогою комп'ютерного прогнозування, докінг-аналізу.
- Основні етичні та технічні підходи до проведення досліджень *in vitro* та *in vivo*

Вміти:

- Використовувати підходи щодо доклінічного прескринінгу із застосуванням альтернативних методів на основі культивованих клітин
- Розробляти протоколи для доклінічних досліджень потенційних лікарських засобів

- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Виконувати оригінальне наукове дослідження
- Використовувати статистичний аналіз для визначення терапевтичного діапазону потенційних лікарських засобів на живі системи
- Використовувати отримані знання в галузі фундаментальної біології та практичної медицини для оцінки результатів та прогнозування подальших досліджень потенційних лікарських засобів
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів

Література:

1. Бондар О.С. Прогнозування біологічної активності сполук з застосуванням комп'ютерних програм. - Чернівці – 2018. – 64 с.
2. Мызников А.О. Компьютерное конструирование лекарств (драг- дизайн) с использованием скаффолд-подхода / А.О. Мызников, К.Р. Таранцева, М.И. Яхкин // труды V Международная научно-практическая конференция "Молодежь.Наука.Инновации". 2012 г. Пенза, ФГБОУ ВПО «Пензенская государственная технологическая академия»
3. Предсказание спектров биологической активности органических соединений с помощью веб-ресурса PASS ONLINE / Д.А. Филимонов, А.А. Лагунин, Т.А. Глориозова [и др.] // Химия гетероциклических соединений. – 2014. – 3. – С. 483—499.
4. Filimonov D.A., Poroikov V.V. PASS Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances // Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use, BIOS Scientific Publishers, Oxford (UK), 1996, P.47-56.
5. Sadym A. Prediction of biological activity spectra via the Internet / A. Sadym, A. Lagunin, D. Filimonov, V. Poroikov // SAR & QSAR Environ. Res. – 2003. – Vol. 14 (5-6). – P. 339-347.
6. Lagunin A. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances / A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov // Bioinformatics. – 2000. – Vol. 16 (8). – P. 747-748.
7. Geronikaki A. Computer-aided prediction for medicinal chemistry via the Internet / A. Geronikaki, D. Druzhilovsky, A. Zakharov, V. Poroikov // SAR & QSAR Environ. Res. – 2008. – Vol. 19(1-2). – P. 27-38. Doi: 10.1080/10629360701843649.
8. Глориозова Т.А. Тестирование компьютерной системы предсказания спектра биологической активности PASS на выборке новых химических соединений / Т.А. Глориозова, Д.А. Филимонов, А.А. Лагунин, В.В. Пороиков // Хим.-фарм. журнал. – 1998. – Т.32, №12. – С. 32-39.
9. Газизов Э.К. Компьютерное прогнозирование биологической активности соединений с помощью программы PASS: [Электронное учебнометодическое пособие] / Э.К. Газизов, Л.П. Шамсутдинов. – 2014. – 68 с
10. Lagunin A. QSAR Modelling of Rat Acute Toxicity on the Basis of PASS Prediction / A. Lagunin, A. Zakharov, D. Filimonov, V. Poroikov // Molecular Informatics. – 2011. – Vol. 30(2-3). – P. 241–250.

Тема 9. Оцінка специфічної фармакологічної активності: Експериментальне вивчення потенційних лікарських засобів для лікування патології серцево-судинної системи.

Доклінічна оцінка лікарського засобу, що впроваджується, зазвичай, включає фармакологічні, загальнотоксикологічні, токсикокінетичні та фармакокінетичні дослідження, вивчення репродуктивної токсичності, генотоксичності і, для препаратів спеціального застосування або призначених для тривалого використання, оцінку канцерогенного потенціалу. Інші доклінічні випробування щодо фототоксичності, імунотоксичності, токсичності для ювенільних тварин і потенціалу лікарської залежності повинні проводитися у разі необхідності.

Доклінічні дослідження безпеки та клінічні випробування на людях повинні плануватися і проводитися з дотриманням відповідних наукових і етичних положень. Для біотехнологічних препаратів відповідні доклінічні дослідження безпеки мають проводитися згідно настанови ICH S6 «Safety Studies for Biotechnological Products». Для зазначених препаратів дана настанова лише обумовлює узгодження за часом доклінічних досліджень відносно клінічних випробувань. Стосовно лікарських засобів, що розробляються для призначень за життєвими показаннями або при тяжких захворюваннях (напр., останні стадії раку, резистентна ВІЛ інфекція і спадкові захворювання дефіциту ферментів), для яких не існує ефективної терапії, необхідно розглядати кожний випадок окремо щодо токсикологічної оцінки та клінічних випробувань з метою оптимізації і прискорення впровадження лікарського засобу. У цих випадках, а також для препаратів, створених з використанням інноваційних методів терапії (напр., siRNA), так само, як і для ад'ювантів вакцин, окремі дослідження можуть бути скорочені, відтерміновані, вилучені або додатково заплановані.

Загальні принципи. Розробка лікарського засобу є поетапним процесом, що включає отримання даних щодо його безпеки та оцінку ефективності препарату на тваринах і людях. Завдання доклінічної оцінки безпеки зазвичай включають характеристику токсичного впливу на органи-мішені, дозозалежність, взаємозв'язок з експозицією, і, за необхідності, потенціал зворотності дії. Ці дані використовуються для встановлення безпечної стартової (початкової) дози, діапазону доз для клінічних випробувань, а також визначення параметрів клінічного моніторингу потенційних побічних ефектів.

Виявлення серйозного негативного ефекту препарату за результатами клінічних або доклінічних досліджень може впливати на тривалість клінічних випробувань. В межах загального клінічного вивчення ці дані можуть бути використані для визначення доцільності та особливостей дизайну додаткових доклінічних та/або клінічних досліджень.

Одним із найважливіших питань оцінки кардіобезпечності є дослідження аритмогенного потенціалу. Не менш важливим є створення і розробка цільових засобів для лікування серцевих аритмій. Останнє десятиріччя характеризується широким впровадженням у практику терапії аритмій пемедикаментозних засобів лікування, включаючи різні типи імплантованих електростимулюючих приладів. Однак донині фармакотерапія залишається методом вибору для лікування більшості порушень ритму серця. На сучасному етапі створена значна кількість нових лікарських засобів з антиаритмічною дією. Але застосування їх у клініці можливе лише після всебічних лікарських випробувань та отримання максимально повної інформації про ефективність та особливість дії з метою розробки рекомендацій із застосування у практиці охорони здоров'я.

Знати:

- Правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами)

- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів серцево-судинної системи *in vivo*
- Мати уявлення про методи виявлення протиаритмічної активності на різних оделях аритмій (аконітинова, строфантинова, хлорид-кальцієва, ішемія-реперфузія тощо).
- Розуміти основні принципи оцінки потенційних кардіотонічних засобів та оцінки їх гемодинамічних та метаболічних впливів
- Принципи скринінгових досліджень потенційних антигіпертензивних засобів
- Розуміти основні етапи поглибленого вивчення антигіпертензивних речовин: дослідження видової чутливості піддослідних тварин до судинного впливу речовини; серцевий і судинний компоненти у гіпотензивному впливі; встановлення фізіологічних механізмів антигіпертензивного впливу; вивчення молекулярних (біохімічних) механізмів гіпотензивного впливу; з'ясування впливів досліджуваної речовини на кровопостачання життєво важливих органів; вивчення впливу досліджуваної речовини на центральні вазомоторні структури та на базові показники центральної гемодинаміки; вивчити ефективність речовини за умов багаторазового (курсного) застосування; вивчення впливу речовин на моделях гіпертензії; визначення впливу фармакологічного засобу на рівень катехоламінів та активність реніну в плазмі крові; визначення можливого негативного впливу фармакологічного засобу на розумову працездатність, процеси навчання, пам'яті.
- Основні показники, які характеризують роботу серцево-судинної системи у лабораторних щурів (кролів, мишей), їх референтні величини та зміни при моделюванні відповідної патології.

Вміти:

- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Проводити вимірювання частоти серцевих скорочень, АТ, знімати ЕКГ у лабораторних тварин (під контролем керівника лабораторії)
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів
- Аналізувати результати наукових досліджень, використовувати методи біостатистики
- Презентувати результати наукових досліджень у вигляді постерних доповідей, публікацій, мультимедійних презентацій

Література:

1. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за №53/17348.
2. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009. 4. ЕМА/СРМР/ІСН/286/1995

(ICH guideline M3(R2)) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, December 2009»

3. ДСТУ 1.5-2003. - Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів/І Фширова, О.Брянська, Є.Козир, Я.Юзьків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.

5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М.: Медицина, 2005. – 829 с.

6. Миронов А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - Москва 2012. – с. 197-219.

7. Доклінічне вивчення безпеки лікарських засобів біотехнологічного походження» Методичні рекомендації (схвалено Науково-експертною радою ДП «Державний експертний центр МОЗ України) - Київ – 2011.

8. ICH S7B The Non-clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals (2004) Note for Guidance ICH Step 2 Revision www.fda.gov/cber/ichqt.htm

9. Safer Medicines Report. Safety Pharmacology working group report. – 2005. – 34 с.

10. Boelsteri, U. A. (2003) Animal models of human disease in drug safety assessment Journal of Toxicological Sciences, 28, 109–121.

11. Guth B.D. Preclinical Cardiovascular Risk Assessment in Modern Drug Development. Review. Toxicological sciences 97(1), 4–20 (2007) doi:10.1093/toxsci/kfm02

12. Gary Gintant, Philip T. Sager and Norman Stockbridge Evolution of strategies to improve preclinical cardiac safety testing - NATURE REVIEWS | DRUG DISCOVERY 2016 M.Publishers Limited . doi:10.1038/nrd.2015.34.

Тема 10. Експериментальне вивчення потенційних лікарських засобів для лікування патології нервової системи

Дослідження фармакології безпеки та фармакодинаміки (ФД) визначаються ICH S7A «Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals». Основний комплекс випробувань фармакології безпеки включає оцінку впливу на серцево-судинну, центральну нервову і дихальну системи і, як правило, здійснюється до початку випробувань на людях відповідно до ICH S7A і S7B «Nonclinical Evaluation of QT Interval Prolongation».

За відповідних обґрунтувань додаткові і наступні дослідження з фармакології безпеки можуть проводитись протягом подальшого клінічного випробування. Для зменшення використання тварин слід розглянути можливість додатково до загальнотоксикологічних випробувань включити всі дані досліджень *in vivo*.

Крім того, для встановлення механізму дії та/або впливу речовини на задану терапевтичну мішень проводяться попередні дослідження ФД (*in vivo* та/або *in vitro*), які, як правило, проводяться на етапі фармацевтичної розробки, а, отже, зазвичай, не вимагають дотримання положень Належної лабораторної практики (GLP). Ці дослідження можуть сприяти вибору доз для доклінічних і клінічних випробувань.

Для оцінки впливу препаратів на функцію ЦНС використовують тест Ірвіна або функціональні спостережливі тести (Functional Observation Battery, FOB) у мілких гирзунів. Це дозволяє отримати інформацію про вплив препарату на наступні параметри:

- Автономні – слюнотеча, слюзотеча, пілоерекція, аномальне сеовиділення і/або дефекація, аномальне дихання, діаметр зіниці, ректальна температура;
- Сенсо-моторні – реакція на дотик (реакція вушної мушлі), пальпебральний рефлекс, рефлекс на звуковий подразник, пінеальний рефлекс, настановний рефлекс;
- Нервово-м'язеві – постуральні реакції, реакція Штраубе, тонус тіла, птоз, екзофтальм, сила сціплення, згинальний рефлекс, судоми, тремор;
- Поведінкові (етологічні) – збудження, рівень спонтанної активності, викалізація, агресивність, обнюхування, грумінг, розчісування, підйом на задні лапки, стереотипія, дивна поведінка (аутономія, вигнутість хвоста, корчі).

Дослідження основного блоку тестів слід проводити на тваринах, що знаходяться у вільному стані (ненаркотизованих і неімобілізованих). Для вивчення нейротоксичності зазвичай використовують щурів, хоча інколи можна використати і інші види тварин. Систематичне дослідження неврологічних рефлексів або реакцій дозволяють оцінити цілісність окремих нервів або нервових шляхів. Оскільки рефлекси/реакції є спільними для багатьох видів, ці результати можуть сприяти екстраполяції даних, отриманих на тваринах, на людину. Зазвичай оцінюють реакцію на світло, рефлекс вушної мушлі, рефлекс м'язів екстензорів.

Оцінка постуральної реакції і нервово-м'язові тести дозволяють оцінити силу захвата, здатність зберігати позу після падіння з невеликої висоти, здатність утримувати масу тіла на одній кінцівці і спроможність підтримувати позу при зміні положення тіла. Тести на силу захвата дозволяють оцінити кількісно м'язовий тонус. Даний параметр відображає ступінь скоординованості рооті периферичних нервових системи і м'язів.

У щурів і мишей широко використовують тести для оцінки когнітивних функцій: тест пасивного уникання, умовний рефлекс пасивного уникання (УРП), метод чотирьох пластин, тест темна/світла камера), тест активного уникання в човниковій камері.

Для вивчення просторової пам'яті і навчання у щурів і мишей розроблені такі тести як тест просторової дискримінації і водний лабіринт Морріса.

З метою тестування робочої пам'яті найбільш широко на щурах і мишах використовують метод розпізнавання нових об'єктів.

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних досліджень
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження
- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами)
- Мати розуміння методик проведення тестів, що дозволяють оцінити стан ЦНС у лабораторних тварин (умовно-рефлекторна діяльність, когнітивно-мнестичні функції, поведінкові реакції)
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів ЦНС *in vivo* (судомні стани, наркоз, паркінсонізм, депресивні розлади, когнітивні порушення, неврологічний дефіцит, тощо)

Вміти:

- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Під контролем керівника лабораторії проводити тести, що дозволяють визначати стан ЦНС у інтактних тварин та за умов моделювання патологічних процесів (Ірвін-тест, коразолові судоми, МЕШ, хрестоподібний лабіринт, умовний рефлекс пасивного та активного уникання, лабіринт Морріса, тест Порсолта, «відкрите поле», тощо)
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів
- Аналізувати результати наукових досліджень, використовувати методи біостатистики
- Презентувати результати наукових досліджень у вигляді постерних доповідей, публікацій, мультимедійних презентацій

Література:

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.
2. Макарова М.Н., Макаров В.Г., Шекунова Е.В. Методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологических веществ // Ведомости НЦЭСМП. Том.7, №2. – апрель-июнь 2017. – С. 111-116.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М.: Медицина, 2005. – 829 с.
4. Миронов А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - Москва 2012. – с. 197-219.
5. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. – Strasburg: Council of Europe. – 1986. – № 123. – 52 p.
6. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Державний фармакологічний центр МОЗ України. – Київ, 2002. – 155 с.
7. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, Б.В. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
8. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
9. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних протисудомних препаратів / Методичні рекомендації під ред. акад. Головенко М.А., проф. Л.О. Громова – К.: ДФЦ МОЗ України, 2003. – 46 с

Тема 11. Експериментальне вивчення потенційних лікарських засобів з анальгетичною та протизапальною діями.

Проблема болю та анальгезії займає одне з центральних місць в сучасній медицині та біології і є предметом широкомасштабного мультидисциплінарного дослідження. Біль - не тільки симптом багатьох гострих та хронічних захворювань, але й складний психофізіологічний феномен, який залучає механізми регуляції та формування емоцій, моторні, гуморальні та гемодинамічні реакції. Специфічна фармакологічна корекція болю здійснюється препаратами груп наркотичних і ненаркотичних аналгетиків та нестероїдних протизапальних засобів (ННА та НПЗЗ). Наркотичні аналгетики (НА) проявляють виражену

центральну аналгетичну дію, то дозволяє використовувати їх для лікування болів високої інтенсивності, небезпечних для життя людини. В дії ННА та НПЗЗ переважає периферична аналгетична дія, за рахунок якої препарати цієї групи ефективні при болях помірної інтенсивності, безпечних для життя. Застосування препаратів групи ННА та НПЗЗ часто супроводжується розвитком таких побічних ефектів, як гастротоксичність, гепатотоксичність, нефротоксичність та інших, які пов'язані з особливостями їх механізму дії. Одним із механізмів дії препаратів групи ННА та НПЗЗ є пригнічення біосинтезу простагландинів (ПГ) і лейкотрієнів (ЛТ), які утворюються в процесі метаболізму арахідонової кислоти за участю ферментів циклооксигенази (ЦОГ) та ліпоксигенази (ЛОГ). ПГ та ЛТ беруть участь не тільки в розвитку патологічних процесів (болю, запалення), але й в регуляції функціональної діяльності багатьох органів і систем організму.

Препарати групи ННА та НПЗЗ (анальгін, парацетамол, ацетилсаліцилова кислота (АСК), індометацин, вольтарен, піроксикам та ін.) пригнічують і ЦОГ-1 і ЦОГ-2, тому, поряд із значною фармакологічною дією вони проявляють характерні побічні ефекти. Побічні ефекти ННА та НПЗЗ обумовлюються також тим, що коли пригнічується ЦОГ, метаболізм арахідонової кислоти йде за ліпоксигеназним шляхом і підсилюється біосинтез ЛТ, які також можуть спричинювати ушкодження печінки, нирок, слизової оболонки шлунка та ін. Тому зараз існує декілька напрямків пошуку та створення нових ННА та НПЗЗ. Одними з них є пошук і створення селективних інгібіторів ЦОГ-2 і селективних інгібіторів ЛТ.

Проте, значний арсенал сучасних ННА та НПЗЗ і створення нових селективних інгібіторів ЦОГ-2 не вирішують проблему виникнення побічних ефектів при тривалому застосуванні препаратів цієї групи в клініці. Крім того, поряд із новими засобами, широко використовуються традиційні (парацетамол, анальгін, аспірин, вольтарен, піроксикам та ін.), які не позбавлені шкідливого впливу на організм людини. Тому в Україні гострою проблемою залишається забезпечення населення препаратами цієї групи: номенклатура сучасних вітчизняних ННА представлена в основному генеричними препаратами і не задовольняє потреб населення, а сучасні імпортовані лікарські засоби залишаються дорогими та малодоступними для широкого кола громадян.

Запалення - це складна, комплексна реакція організму у відповідь на ураження тканин різноманітними патогенними подразниками. Будь-яке пошкодження тканин, незалежно від причин, що його викликали, може призвести до запалення. Але перебіг запального процесу, наприклад, бактеріального і алергічного, значно відрізняється одне від одного. Та, незважаючи на особливості запальних реакцій, для їх патогенезу характерні три фази: альтеративна, ексудативна, проліферативна, які, у свою чергу, визначають особливості їх фармакологічної корекції.

Сучасні погляди на ексудативні та проліферативні процеси в осередку запалення як такі, що визначають результат запальної реакції, зумовлюють пошук лікарських засобів, здатних регулювати вказані процеси. Для більшості нестероїдних протизапальних препаратів, що використовуються практичними закладами охорони здоров'я, в основному характерна вказана активність. Меншою мірою або взагалі вони не попереджають розвиток альтеративних процесів в осередку запалення, а також виявляють багато побічних ефектів, що є суттєвим недоліком в їх дії. Зважаючи на вищезазначене, уявляється доцільним подальший пошук нових нестероїдних протизапальних препаратів проводити цілеспрямовано, з урахуванням їх спроможності до вибіркового впливу на ту чи іншу фазу запалення.

Сучасні нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ): індометацин, диклофенак-натрій, піроксикам, бутадіон, ацетилсаліцилова кислота та ін., за рахунок основного механізму дії -

інгібування біосинтезу простагландинів (ПГ), спроможності виражено пригнічувати ексудацію і проліферацію, певним чином впливають на методичні підходи і принципи в пошуку нових НПЗЗ. У таблиці 1 наведено коротку характеристику найбільш активних НПЗЗ: індометацину, диклофенаку-натрію, ібупрофену та бутадіону, з якої видно, що ці препарати пригнічують ексудацію, гіпертермію, практично не впливають (або погіршують) протікання альтеративного запального процесу, зменшують утворення грануляційної тканини, є ненаркотичними анальгетиками.

Проте всі вони виявляють виражену ульцерогенну, гепатотоксичну дію, несприятливо впливають на процеси метаболізму у міокарді, суглобовому хрящі, сприяють бронхоспазму [16]. Ці прояви дії НПЗЗ, як позитивні, так і негативні, є наслідком їх основного механізму дії - впливу на ПГ. Підходи до пошуку та вивчення нових НПЗЗ базуються на знаннях сучасних аспектів патогенезу запалення, що дозволяє шукати речовини, які пригнічують медіатори гострої фази запалення: біогенні аміни, продукти метаболізму арахідонової кислоти, кініни, протеолітичні ферменти. Викликають інтерес сполуки, які вибірково пригнічують продукти ліпоксигеназного шляху перетворення арахідонової кислоти, що сприяє зменшенню побічних ефектів препаратів. Перспективним є створення НПЗЗ з імуномодулюючою і хондропротекторною дією

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних досліджень
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження
- Основні шляхи введення експериментальних речовин та дослідження дії лікарських засобів *in vivo* з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Гельсінської декларації
- Правила роботи з експериментальними системами (лабораторними тваринами)
- Загальні уявлення щодо методів індукції експериментальних патологічних станів в системі *in vitro*, *in vivo*, *in silico*
-

Вміти:

- Працювати з експериментальними тваринами згідно правил біоетики та міжнародних настанов із гуманного поводження із лабораторними тваринами
- Розробляти дизайн та план наукового дослідження
- Виконувати оригінальне наукове дослідження
- Аналізувати результати наукових досліджень, використовувати методи біостатистики
- Презентувати результати наукових досліджень у вигляді постерних доповідей, публікацій, мультимедійних презентацій
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів
-

Література:

1. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за №53/17348.
2. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О.Стефанов, Т.Бухтіарова,

В.Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009. 4. EMA/CPMP/ICH/286/1995 (ICH guideline M3(R2)) «Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals, December 2009»

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / О.В. Стефанов – К.: Авіцена, 2001. – 527 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. – М.: Медицина, 2005. – 829 с.
5. Миронов А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - Москва 2012. – с. 197-219.
6. ДСТУ 1.5-2003. - Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів/І Фширова, О.Брянська, Є.Козир, Я.Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
7. Доклінічне вивчення безпеки лікарських засобів біотехнологічного походження» Методичні рекомендації (схвалено Науково-експертною радою ДП «Державний експертний центр МОЗ України) - Київ – 2011.
8. SaferMedicines Report. Safety Pharmacology working group report. – 2005. – 34 с.
9. Boelsteri, U. A. (2003) Animal models of human disease in drug safety assessment Journal of Toxicological Sciences, 28, 109–121.

Тема 12. Аналіз та базова статистична обробка отриманих результатів дослідження.

Математичні методи аналізу даних широко використовують при дослідженні різноманітних систем і процесів – природних, технічних, екологічних, економічних, соціальних тощо. З огляду на це формування відповідних знань та навичок є необхідною складовою підготовки фахівців у галузі системних наук і кібернетики, інформатики та багатьох інших галузей знань. Останнім часом значного поширення набувають нові технології й методи аналізу даних, зокрема методи інтелектуального аналізу даних (data mining), які використовують для виявлення прихованих закономірностей у великих масивах даних, та нейроінформатики, а також методики й засоби статистичного контролю за якістю на виробництві та в управлінні організаціями.

Основні процедури аналізу даних найчастіше реалізують за допомогою сучасних комп'ютерних технологій. При цьому дослідники або самі будують розрахункові алгоритми й пишуть відповідні комп'ютерні програми, або використовують наявне програмне забезпечення – електронні таблиці MS Excel, спеціалізовані пакети SPSS, STATISTICA, математичні пакети загального призначення MatLab, MathCad тощо. Але навіть при застосуванні спеціалізованих пакетів досліднику необхідно володіти теоретичними основами математичних методів аналізу даних, оскільки зазвичай це передбачає необхідність вибору оптимальних алгоритмів та певних параметрів їх реалізації, іноді з декількох сотень можливих варіантів. Це зумовлює необхідність вивчення майбутніми фахівцями основних понять та алгоритмів аналізу даних.

Знати:

- Сучасні принципи структури доклінічних досліджень
- Основні фактори, що впливають на дизайн дослідження
- основні типи даних, що підлягають аналізу;
- методи побудови описової статистики й емпіричних функцій розподілу;

- критерії перевірки статистичних гіпотез щодо однорідності вибірок та порівняння емпіричних функцій розподілу з теоретичними моделями;
- критерії та методи перевірки наявності статистичного зв'язку між ознаками;
- теоретичні основи та основні методи регресійного й факторного аналізу;
- методи класифікації даних.

Вміти:

- Інтерпретувати та аналізувати інформацію з використанням новітніх інформаційних технологій
- Розробляти протоколи для доклінічних досліджень потенційних лікарських засобів
- Використовувати статистичний аналіз для визначення терапевтичного діапазону потенційних лікарських засобів на живі системи
- Використовувати отримані знання в галузі фундаментальної біології та практичної медицини для оцінки результатів та прогнозування подальших досліджень потенційних лікарських засобів
- Дотримуватись академічної доброчесності при здійсненні наукових досліджень та аналізу їх результатів

Література:

1. Біостатистика: підручник / В.Ф. Москаленко, О.А. Гульчій, М.В. Голубчиков // За ред. В.Ф. Москаленка. – К.: Книга плув. – 2009. – 184 с.
2. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик. - пер. с англ. под ред. В.П. Леонова // М.: Практическая медицина, 2011. – 480 с.
3. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М.: ГЭОТАРМЕД, 2001. – 256 с.;
4. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медицина, 1963. – 152 с.;
5. Статистика охорони здоров'я: нав.-метод. Посібник для самост. Вивч. Дисципліни / Г.С. Столяров, Ю.В. Вороненко, М.В. Голубчиков. К.: КНЕУ. – 2000. – 187 с.

Сайти мережі Інтернет:

1. <http://datan.ucoz.ru> (сайт циклу дисциплін “Аналіз даних”, “Математичні методи аналізу даних”, “Комп’ютеризовані технології аналізу даних”);
2. <http://www.basegroup.ru> (сайт BaseGroup Labs – провідного російського розробника програмного забезпечення з аналізу даних);
3. <http://www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm> (електронний підручник статистики фірми StatSoft – провідного розробника статистичного програмного забезпечення);
4. <http://www.aup.ru/books/m163/> (підручник О.І. Орлова “Прикладна статистика”);
5. <http://www.ami.nstu.ru/~headrd> (сторінка професора Б.Ю. Лемешка на сайті Новосибірського державного технічного університету);
6. <http://uk.wikipedia.org>, <http://ru.wikipedia.org>, <http://www.wikipedia.org> (Вікіпедія, необхідно перейти на потрібні сторінки за ключовими словами, наприклад “математична статистика”, “критерій Колмогорова”, тощо; є багато посилань на інші електронні ресурси);
7. <http://www.biometrika.tomsk.ru> (Біометрика – сайт доказової біології та медицини; багато матеріалів із застосування методів аналізу даних в біології та медицині);
8. http://dvo.sut.ru/libr/opds/i130hodo_part1/index.htm;

9. <http://www.dvo.sut.ru/libr/opds/i130hod2/index.htm> (навчальний посібник Г.Б. Ходасевича “Обробка експериментальних даних на ЕОМ”);
10. <http://attestatsoft.narod.ru/index.htm> (сайт розробника статистичного програмного забезпечення AtteStatSoft);
11. <http://www.medstatistica.com> (сайт “Статистика в медико-біологічних дослідженнях”).