



***Доклинические исследования
лекарственных средств.
GLP («Good Laboratory Practice») -
надлежащая лабораторная практика.***

Связь надлежащих практик G x P



Предпосылки появления GLP.
Лекарство искалечившее тысячи жизней.
Талидомидовая трагедия.



С 1958 по 1967 годы талидомид продавался в 50 странах мира под 37 разными названиями. При этом, объемы продаж препарата в некоторых странах уступали только аспирину.

Предпосылки появления GLP. Талидомидовая трагедия.



Всего, по различным оценкам, в результате применения талидомида **от 8000 до 12 000 новорождённых родились с физическими уродствами**, из них лишь **около 5000** не погибли в раннем возрасте, оставшись **инвалидами на всю жизнь**.

Предпосылки появления GLP.

- - 1937 г. (США) - применения сульфаниламида, растворенного в токсическом веществе диэтиленгликоле. Погибли 107 больных.
- - 1954 г. (Франция) - отравление препаратом сталинол. Погибли 100 человек.
- - 1997 г. (Гаити) - прием сиропа ацетаминофена, содержащего примеси диэтиленгликоля. У 109 детей - отравления различной степени тяжести. Погибли 88 (почечная недостаточность).

Нормативно-правовая база РФ

- **Статья 11, ФЗ № 61**
«Об обращении лекарственных средств».
- **ГОСТ 33044-2014** «Принципы надлежащей лабораторной практики»
- **ГОСТ 31891-2012** Межгосударственный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*».
- **МЗ РФ Приказ N 199н** Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики (от 1 апреля 2016 г.).

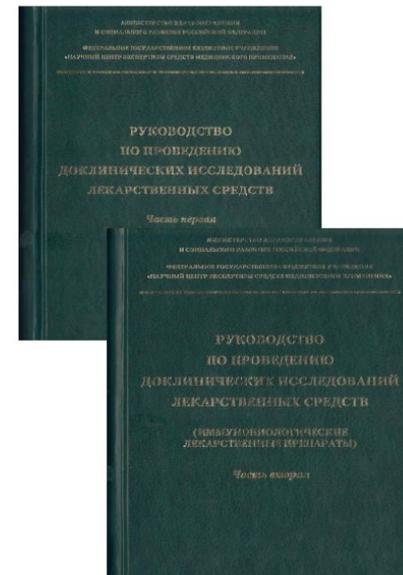


Нормативно-правовая база РФ

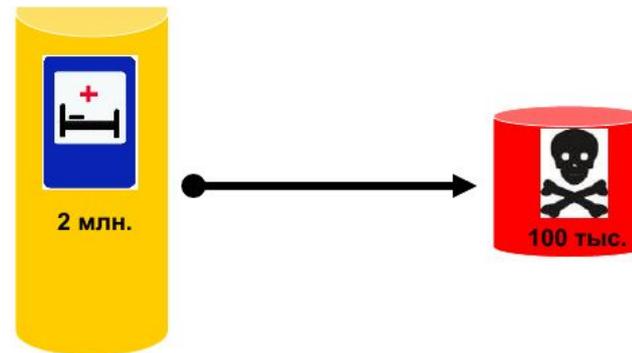
- **ГОСТ 31879-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Руководство по процедурам мониторинга соответствия Принципам GLP
- **ГОСТ 31880-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Руководство по проведению инспекций испытательных центров и аудитов исследований
- **ГОСТ 31881-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Роль и обязанности руководителя исследований в соответствии с Принципами GLP
- **ГОСТ 31882-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Организация и контроль архивов
- **ГОСТ 31883-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Обеспечение качества в соответствии с Принципами GLP
- **ГОСТ 31884-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Соответствие поставщиков испытательного центра Принципам GLP
- **ГОСТ 31885-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение Принципов GLP к исследованиям в полевых условиях
- **ГОСТ 31886-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение Принципов GLP к краткосрочным исследованиям
- **ГОСТ 31887-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение Принципов GLP к компьютеризированным системам
- **ГОСТ 31888-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Роль и обязанности спонсора в соответствии с Принципами GLP
- **ГОСТ 31889-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Подача заявки и проведение инспекций и аудитов исследований в другой стране
- **ГОСТ 31890-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Организация и управление исследованиями, проводимыми на нескольких испытательных площадках
- **ГОСТ 31891-2012** Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP). Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*

Нормативно-правовая база РФ

- **Руководство** по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1-2. Под ред. Миронова А.Н. и др. 2012 г.
- **СП 2.2.1.3218-14** « Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».



И тем не менее...



- По данным эпидемиологических исследований, побочные эффекты лекарственной терапии в США и Канаде выходят **на 4-5-е место в структуре смертности.**
- **За последние 10 лет** с фармацевтического рынка Европейского союза (по причинам, связанным с недостаточной безопасностью) **отозвано 120 препаратов** (33% из них - в первые 2 года продаж).
- По данным Федерального центра экспертизы безопасности лекарственных средств, **в 2010 г. в РФ** было собрано **9404 сообщения о неблагоприятных побочных реакциях** лекарственных средств, их неэффективности; **тяжелые осложнения получили 5 тыс. человек, 79 скончались.**

При этом по расчетам экспертов ВОЗ, при населении страны в 140 млн человек таких фактов должно фиксироваться не менее 40–60 тыс. ежегодно.

ФЕДЕРАЛЬНЫЕ ЗАКОНЫ РФ: **"Об обращении лекарственных средств" N 61-ФЗ**

Статья 10. Разработка лекарственных средств

1. Разработка лекарственных средств включает в себя **поиск** новых фармакологически активных веществ, последующее **изучение их лекарственных свойств, доклинические исследования**, разработку технологий производства фармацевтических субстанций, разработку составов и технологий производства лекарственных препаратов.

Статья 11. Доклиническое исследование лекарственного средства для медицинского применения

1. Доклиническое исследование лекарственных средств для медицинского применения (ЛСМП) проводится путем применения научных методов оценок в целях получения доказательств **безопасности, качества и эффективности** лекарственного средства.
2. Доклиническое исследование ЛС для медицинского применения проводится в соответствии **с правилами лабораторной практики**, утвержденными уполномоченным федеральным органом исполнительной власти.
4. Доклиническое исследование ... проводится по утвержденному разработчиком лекарственного средства **плану** с ведением **протокола** этого исследования и составлением **отчета**, в котором содержатся результаты этого исследования и заключение о возможности проведения клинического исследования ЛСМП.

- Надлежащая лабораторная практика/Правила лабораторной практики (Good Laboratory Practice - GLP):

Система требований (стандарт) к организации, планированию и проведению доклинических (неклинических) исследований веществ (лекарственных средств), оформлению результатов и контролю качества указанных исследований.



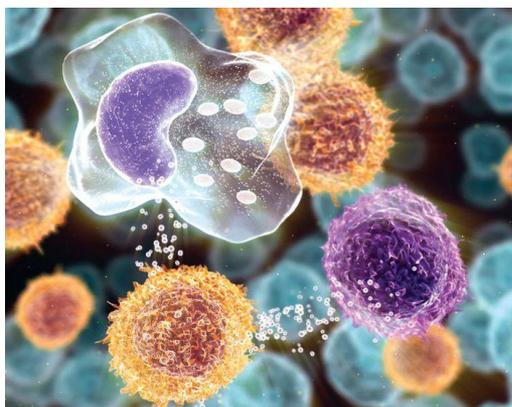
Применение GLP

- Принципы GLP применимы для всех испытаний в области медицинской и экологической безопасности, проводимых в целях регистрации
 - лекарственных средств,
 - пестицидов,
 - пищевых и кормовых добавок,
 - косметической продукции,
 - ветеринарных препаратов,
 - химических веществ промышленного назначения



Категории (виды) доклинических испытаний

- 1. Токсикологические
- 2. Общефармакологические и специфические фармакологические (клинико-фармакологическая группа)
- 3. Фармакокинетические (биодоступность/биоэквивалентность, метаболизм, выведение)
- 4. Химические, физические, биологические, микробиологические и др. исследования ЛС.



1. Виды доклинических токсикологических исследований

Изучение токсичности вещества на животных требуется для: идентификации и измерения кратковременного и долговременного токсического действия лекарственного средства, включая: обратимость токсических эффектов и сферу их распространения в организме.



Виды доклинических токсикологических исследований

- **Острая токсичность** - токсичность при однократном или дробном введении через короткие (не более 3-6 часов) интервалы в течение суток).
- Исследование предназначено для качественного и количественного изучения острых токсических реакций после однократного введения АФИ в тех пропорциях и физико-химическом состоянии, в которых АФИ содержится в ГЛС.
- На двух или более видах млекопитающих, которые принадлежат к чистым линиям.
- Не меньше двух разных способов введения, один из которых идентичный или подобен тому, который рекомендуют для введения человеку, а другой обеспечивает системное действие вещества.
- Изучают разные признаки токсичности, в т.ч местные реакции.
- Период надзора за животными д.б. достаточным для выявления признаков повреждения или восстановления органов и тканей - 14 суток (но не менее 7 сут.).

Виды доклинических токсикологических исследований

- **Подострая (субхроническая) и хроническая токсичность** - токсичность при повторных введениях.
- Исследование предназначено для выявления физиологических и/или патологоанатомических изменений, обусловленных повторным введением АФИ или комбинации АФИ и определения зависимости этих изменений от дозы.
- **Субхроническая (подострая) токсичность** - продолжительность введения 2-12 недель.
- **Хроническая токсичность** (включает в себя повторные введения препарата на протяжении 3-6 мес (до 1 года и более)).
Цель - определение нетоксичного диапазона доз. Кумулятивное действие.
- Продолжительность зависит от условий клинического применения.
- Если ЛС предназначено для однократного применения - только одно испытание субхронической токсичности (2-4 нед).

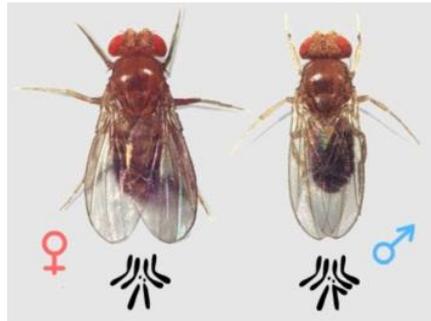
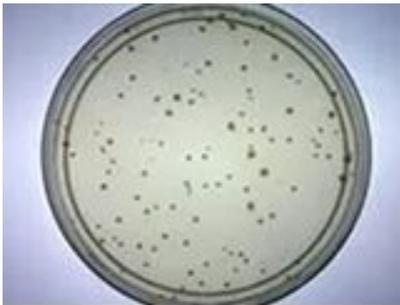
Виды доклинических токсикологических исследований

- **Специфическая токсичность** (специальные токсикологические исследования):
 - местно-раздражающее,
 - аллергизирующее действие,
 - канцерогенность,
 - репродуктивная токсичность,
 - генотоксичность (мутагенность),
 - эмбриотоксичность,
 - тератогенность,
 - гонадотоксичность,
 - иммунотоксичность,
 - пирогенность.

Виды доклинических токсикологических исследований

Алгоритм оценки мутагенной активности

1. Бактериальные тесты - *Salmonella typhimurium* (Тест Эймса + метаболическая активация)
2. *Drosophila melanogaster* (ДЛМ, РСПЛМ, соматические мутации)
3. Мыши, крысы - микроядерный тест (костный мозг)
4. Культура лимфоцитов *in vitro* (хромосомные aberrации)
5. Хромосомные aberrации *in vivo*



Доклинические токсикологические исследования

Токсикологические исследования позволяют ответить на вопросы:

- каковы максимально переносимые дозы;
- какие ткани, органы, клетки повреждаются и какие физиологические функции нарушаются при фармакологическом воздействии исследуемого вещества, то есть какие возможны побочные эффекты;
- каков потенциальный риск мутагенности, канцерогенности и др. исследуемого вещества.

Категории (виды) доклинических испытаний.

Общепармакологические испытания.

- **Экспериментальная фармакология изучает фармакологические свойства исследуемого вещества и его основных метаболитов.**
- Исследуют **специфическую активность** препарата:
 - эффективность при экспериментальной патологии,
 - лиганд-рецепторное взаимодействие и специфичность действия.

А также:

- Изучение фармакологических эффектов, выходящих за рамки планируемых терапевтических показаний.
- Изучается воздействие вещества на основные физиологические системы: нервную, костно-мышечную, мочеполовую и сердечно-сосудистую...
- Устанавливается терапевтическая доза изучаемого ЛС.

Категории (виды) доклинических испытаний. Фармакокинетика и метаболизм.

- **Фармакокинетическая информация** относительно исследуемого вещества - данные о всасывании, распределении, связывании с белками и выведении.
- Изучается **местная и системная биодоступность** изучаемого вещества и его метаболитов.

Проводятся специальные расчеты для определения:

- **скорости элиминации** (K_{e1}) - скорость выведения препарата из организма путем биотрансформации,

- **абсорбции** (K_a) - скорость его поступления из места введения в кровь

- **экскреции** (K_{ex}) - скорость выведения с мочой, желчью, калом, слюной и др.

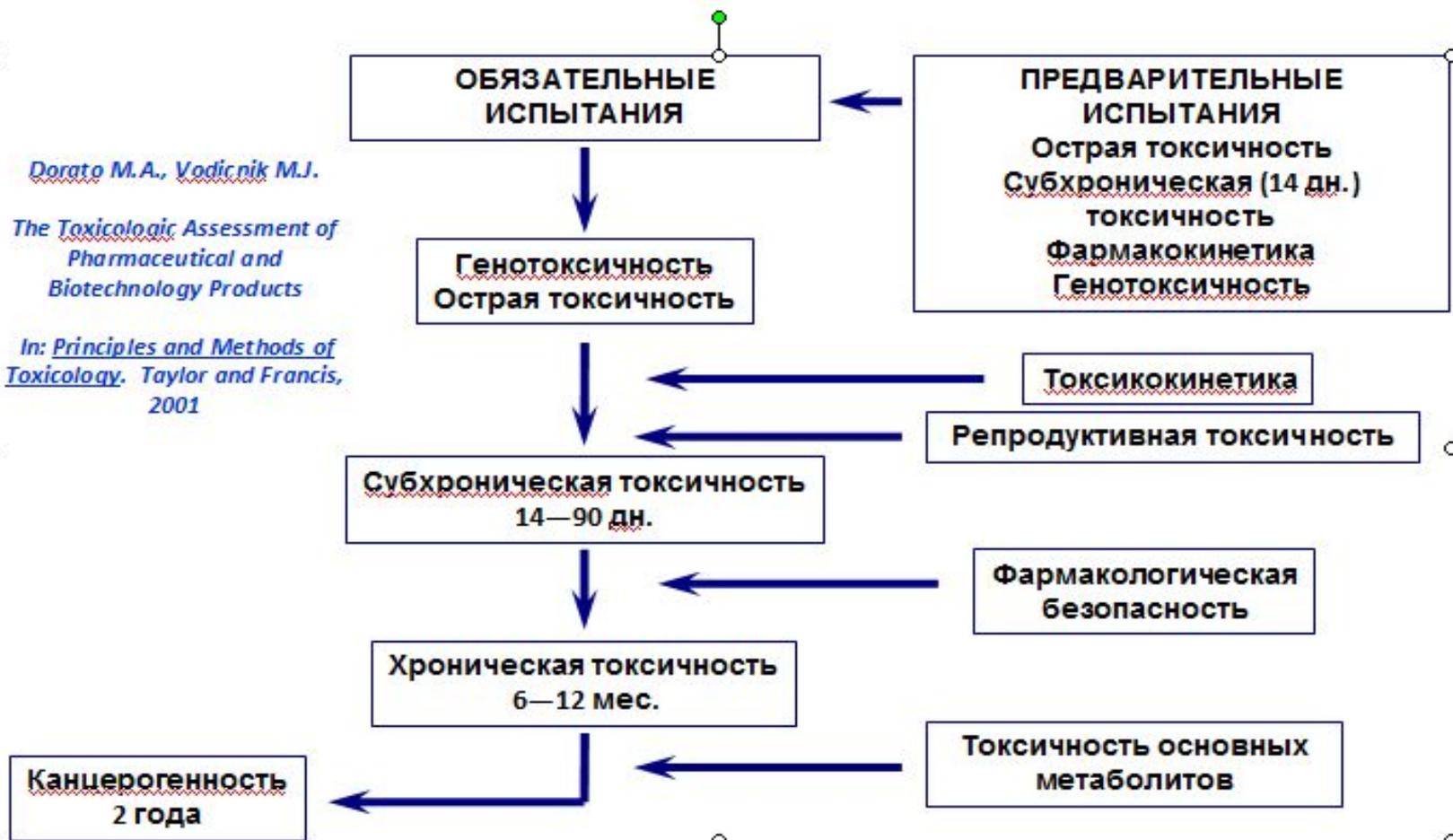
- Также изучаются: период полувыведения, период полуабсорбции, период полураспределения, начальная концентрация, равновесная концентрация (минимальная и максимальная), объем распределения препарата, общий клиренс препарата, площадь под кривой концентрация – время, абсолютная и относительная биодоступность.

Термины...

- **Фармакодинамика** - изучение совокупности эффектов, вызываемых ЛВ, а также механизмы его действия.
- **Фармакокинетика** - изучение пути поступления, распределения, метаболизма и выведения ЛВ в организме.
- **Биодоступность** — это количество лекарственного вещества, достигающее до места его действия в организме человека или животных (способность препарата усваиваться).
Биодоступность это главный показатель, характеризующий количество потерь, т.е. чем выше биодоступность лекарственного вещества, тем меньше его потерь будет при усвоении и использовании организмом.
- **Клиренс препарата** - показатель скорости очищения биологических жидкостей или тканей организма от вещества в процессе его биотрансформации, перераспределения в организме, а также выведения из организма.
Клиренс отражает скорость очищения плазмы от лекарственного вещества (Клиренс = Скорость элиминации вещества / Концентрация вещества в плазме)

- **Токсичность** - свойство вещества при попадании в определенных количествах в организм человека или животных вызывать их отравление или гибель.
- **Мутагенность** - действие вещества, способное вызвать изменение генетического аппарата клетки и приводящее к изменению наследственных свойств.
- **Тератогенность** - свойство, характеризующее способность вещества при его применении в период беременности нарушать развитие тканей и органов плода и приводить к врожденным уродствам.
- **Канцерогенность** - действие вещества, способное вызывать развитие опухолей.

СХЕМА ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ НА БЕЗОПАСНОСТЬ



ПРОГРАММА ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

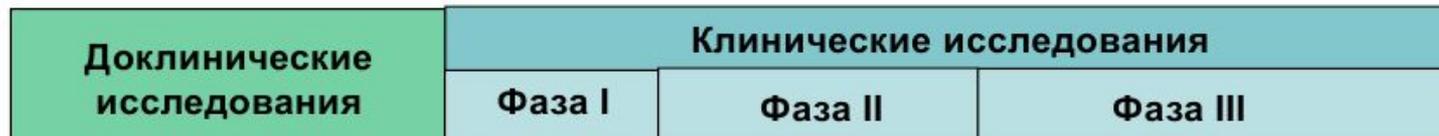
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Москва, 2012 (глава 59)

Наименование исследований	1	2
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ	+	
ИЗУЧЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ	+	
ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	+	
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ		
Острая токсичность	+	+
Субхроническая токсичность	+	+
Хроническая токсичность	+	
Генотоксичность	+	
Репродуктивная токсичность	+	
Канцерогенность	+	

1 - оригинальные, 2 - воспроизведенные

«Доклинические» или «Неклинические» исследования

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ



↑ Первое назначение человеку

- Острая токсичность
- 14-дневная токсичность и токсикокинетика
- Генотоксичность
- Фармакологическая безопасность

- 1- или 3-месячная токсичность
- 6-месячная токсичность
- Канцерогенность
- Токсичность метаболитов
- Репродуктивная токсичность (до назначения женщинам и детям)

Принципы GLP.

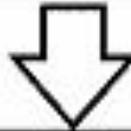


Основные принципы GLP

- Компетентность и ответственность персонала
- Программа обеспечения качества
- Помещения
- Оснащенность лаборатории
- Тест-системы
- Соблюдение условий хранения изучаемых веществ
- Внутренний контроль за проведением исследования
- Ведение протокола исследования
- СОП. Первичная документация (Досье исследов.)
- Оформление окончательного отчета
- Сохранность данных эксперимента

Требования GLP

Общие требования GLP



- ДИ ЛС может проводить организация любой формы собственности, имеющая необходимую материально-техническую базу, квалифицированных специалистов и способная выполнять ДИ в соответствии с установленными требованиями .
- ДИ ЛС на животных проводят с соблюдением правовых и этических норм в соответствии с рекомендациями комитета по биоэтике организации, выполняющей исследования
- Организация, проводящая ДИ ЛС, несет ответственность за объективность, точность и полноту получаемых результатов и выдаваемого на их основе заключения о возможности проведения клинических испытаний ЛС
- В организации должны быть созданы условия по обеспечению конфиденциальности результатов исследований

Основные требования GLP к персоналу исследовательской организации

➤ Организация, проводящая ДИ ЛС, должна быть укомплектована персоналом, имеющим соответствующее образование, подготовку, квалификацию и опыт работы

➤ Полномочия и ответственность персонала должны быть оформлены документально

➤ Руководитель организации обеспечивает выполнение организацией установленных требований к проведению ДИ (техническая оснащенность (компьютеризация) лабораторий, вивария и т. д.)

➤ Руководитель исследования организует, осуществляет и контролирует:

- проведение ДИ
- выполнение персоналом протокола исследования
- документальное оформление результатов, интерпретацию и анализ получаемых данных
- составление отчета об исследовании
- обеспечение конфиденциальности полученных результатов

Основные требования GLP к персоналу исследовательской организации

- Ответственные исполнители обеспечивают:
 - подготовку и проведение основных этапов исследования
 - контроль за соблюдением установленных СОП
 - сбор и документирование полученных данных
 - регистрацию всех отклонений от протокола исследования и установленных процедур и принятие мер по их устранению
 - представление результатов исследования в виде отчетов

- Администрация организации должна обеспечить:
 - объективность и независимость подразделения (группы контроля качества) или уполномоченных сотрудников, осуществляющих контроль за правильным проведением испытаний

- В обязанности группы контроля качества входит:
 - документальное оформление перечня исследований
 - оценка протоколов и методов исследования на соответствие установленным требованиям
 - отчеты проверок и рекомендации по устранению недостатков

Основные требования GLP к помещениям исследовательской организации

➤ Помещения, предназначенные для проведения ДИ ЛС, следует располагать, проектировать и эксплуатировать так, чтобы обеспечить выполнение проводимых исследований в соответствии с установленными требованиями

➤ Планировка помещений для содержания экспериментальных животных должна обеспечивать:

- изолированное содержание различных видов животных
- раздельное содержание тест-систем
- изоляцию поступающих и больных животных
- наличие отдельных помещений для хранения кормов, оборудования и инвентаря для ухода за животными

➤ Наличие в организации изолированных помещений для хранения архивных образцов и документов

➤ Помещения для проведения ДИ должны соответствовать установленным санитарно-гигиеническим нормам

➤ Все производственные помещения должны подвергаться периодической санитарной обработке, не оказывающей влияния на результаты исследования

Основные требования GLP к оборудованию исследовательской организации

- Измерительное и испытательное оборудование, используемое в исследованиях, должно пройти метрологический контроль, поверку (калибровку) и иметь соответствующее заключение специалистов
- Эксплуатация оборудования проводится уполномоченным персоналом в соответствии с техническим паспортом и СОП по использованию и обслуживанию оборудования
- Безопасное обращение, транспортирование, хранение, использование и плановое обслуживание измерительного и испытательного оборудования должно осуществляться в соответствии с документально оформленными и утвержденными СОП
- Необходимый учет используемого испытательного и измерительного оборудования

Основные требования GLP к оборудованию исследовательской организации. Учетные данные.

- наименование прибора, производителя, страны производителя;
- модель прибора, серийный (заводской) номер, дата получения и постановки на учет, дата запуска в эксплуатацию, инвентарный номер;
- месторасположение прибора;
- сведения о месте хранения технического паспорта на прибор, инструкциях по его эксплуатации;
- данные о сотруднике, ответственном за использование прибора;
- данные о сотруднике (подразделении, организации), ответственном за техническое обслуживание прибора;
- подробные записи о плановом обслуживании оборудования и результатах проведения профилактических осмотров, датированные и заверенные подписью ответственного лица;
- подробные записи о любых повреждениях, отказах, ремонте прибора, датированные и заверенные подписью сотрудника (лица), ответственного за техническое состояние прибора;
- подробные записи о калибровке прибора, датированные и заверенные подписью лица, ответственного за обслуживание прибора



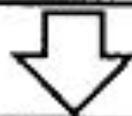
Документация доклинических исследований. Требования GLP.

- Соглашение на проведение ДИ (Договор)
- Программа ДИ
- Протокол ДИ
- Стандартные рабочие процедуры (СОП)
- Материалы ДИ (Первичные данные -Досье исследования)
- Материалы аудитов службы обеспечения и контроля качества (СОК)
- Заключение СОК о соответствии исследования статусу GLP
- Отчет о ДИ



Экспериментально-биологическая клиника (виварий). Требования GLP.

Требования GLP к содержанию и использованию животных



- Доклинические исследования ЛС проводят на здоровых животных с учетом рекомендаций независимого комитета по биоэтике
- Организация должна документально установить все процедуры, связанные с уходом за животными (кормление, поение, смена подстилки, пересаживание, мытье клеток, уборка помещений, в которых содержатся животные) и манипуляциями с животными
- Для обеспечения индивидуального наблюдения и исключения ошибок в процессе выполнения исследования организация должна документально установить систему идентификации животных
- Животные, предназначенные для исследования различных ЛС, должны содержаться отдельно
- Корм и вода должны обеспечивать пищевые потребности животных в соответствии с протоколом исследования, быть свободными от патогенных микроорганизмов и вредных примесей и не должны влиять на результаты исследования

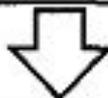
ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Для биологических тест-систем должны быть созданы надлежащие условия их содержания, размещения и работы с ними, обеспечивающие достоверность получаемых результатов



Служба гарантии (контроля) качества исследовательской организации.

Основные направления инспектирования



➤ организация и персонал

➤ программа обеспечения качества

➤ особенности лабораторных помещений и вивария

➤ уход, содержание и меры предосторожности при использовании биологических тест-систем

➤ оборудование, материалы, реактивы и образцы

➤ тест-системы

➤ исследуемые и стандартные вещества

➤ стандартные рабочие методики

➤ проведение исследований

➤ отчет о результатах исследования

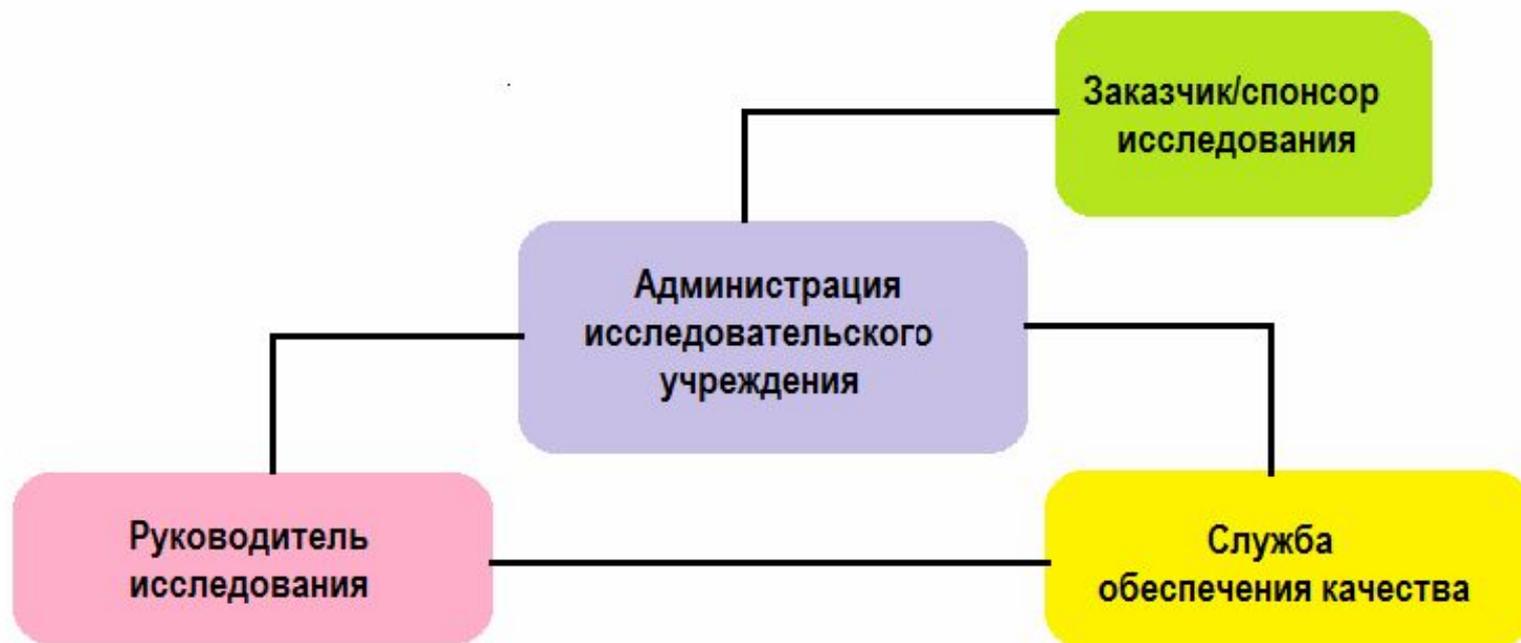
➤ хранение документации

Организация ДИ (ФЗ-61)

- Организация проведения доклинического исследования лекарственного средства для медицинского применения **осуществляется его разработчиком.**
- Научно-исследовательские организации любой формы собственности, образовательные учреждения высшего профессионального образования, имеющие необходимую материально-техническую базу и квалифицированных специалистов в соответствующей области исследования.

Организация ДИ.

Субъекты доклинических исследований в соответствии с Правилами GLP



Организация ДИ по GLP.

