

## Актуальные вопросы доклинических исследований в Российской Федерации

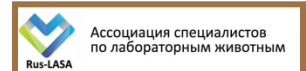
Макаров Валерий Геннадьевич  
Научный руководитель  
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»

# Темы GLP-planet III

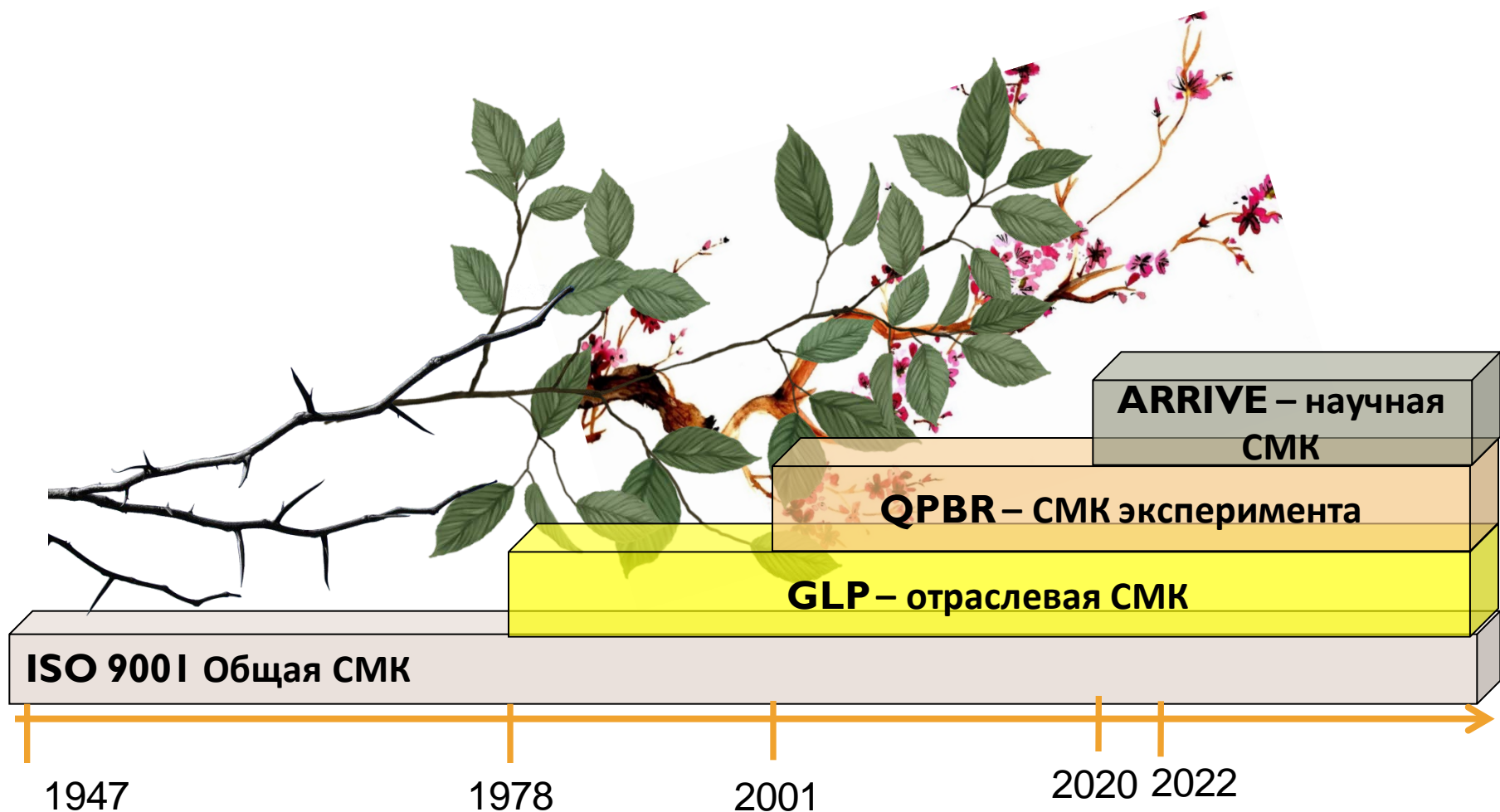
1. Дизайн фармакологического эксперимента. Внедрение принципов ARRIVE в работу исследовательских центров
2. Исследования COVID-19
3. Зоотехния и ветеринарное обеспечение
4. Достижения и ближайшие цели GxP для устойчивого развития фармацевтической отрасли в ЕАЭС
5. Референтные интервалы. Показатели нормы у лабораторных животных
6. Обеспечение качества в лабораториях разного типа
7. Технологические процессы в доклинических исследованиях. Рискориентированный подход
8. *Workshop: Надлежащее содержание лабораторных животных*
9. *Workshop: Оценка степени тяжести экспериментальных процедур в исследованиях на животных*
10. *Workshop: Альтернативные методы исследования*



GxP



# Становление систем менеджмента качества в доклинических исследованиях



# Дизайн фармакологического эксперимента. Внедрение принципов ARRIVE в работу исследовательских центров



**ARRIVE:** Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments

***Разработано международной рабочей группой, в которую вошли исследователи из академических кругов и промышленности, спонсоры, редакторы журналов, методологи и статистики***

**Первое издание – 2010 год <sup>1</sup>**

Более 1000 журналов отреагировали на публикацию руководства, разместив ссылку на него на своих веб-сайтах и в своих инструкциях авторам.

**Второе издание – 2020 год <sup>2</sup>**

Вышли с комментариями<sup>3</sup> детализирующими каждый пункт рекомендаций.

Опубликованы в 7 журналах:

1. PLoS Biol.,
2. Exp Physiol.,
3. J Physiol.,
4. Br J Pharmacol.,
5. J Cereb Blood Flow Metab.,
6. BMJ Open Sci.,
7. BMC Vet Res.

<sup>1</sup>Kilkenny C, Parsons N, Kadyszewski E, Festing MF, Cuthill IC, Fry D, et al. Survey of the quality of experimental design, statistical analysis and reporting of research using animals. PLoS One. 2009; 4: e7824.

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. PLoS Biol. 2010; 8: e1000412.

<sup>2</sup>Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. (2020) The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. PLoS Biol 18(7): e3000410.

<sup>3</sup>Percie du Sert N, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, Browne WJ, et al. (2020) Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. PLoS Biol 18(7): e3000411

## Vivian Leung и соавторы в 2018 г. – оценили эффект от первого издания:



Ретроспективное обсервационное когортное исследование:

- статьи из 5 журналов, поддерживающих ARRIVE (SUPP),
- статьи из 2 журналов, не поддерживающих (nonSUPP),

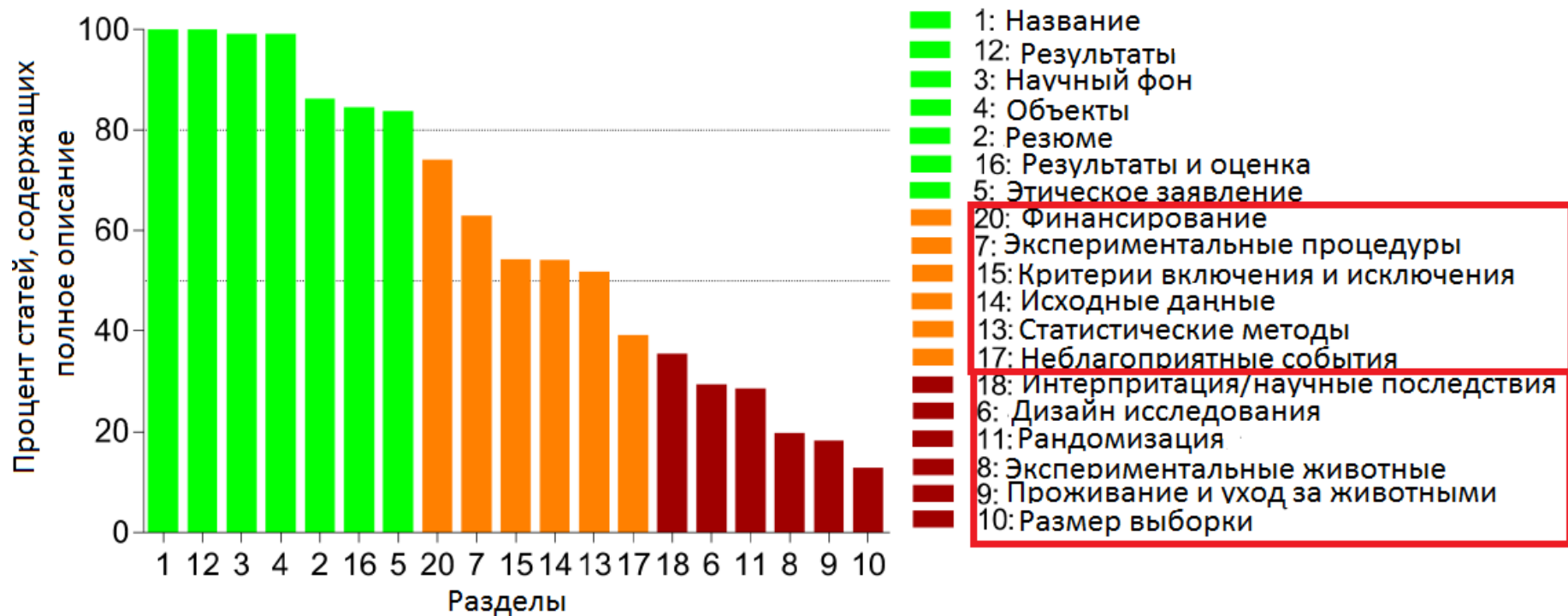
до публикации рекомендаций ARRIVE - 2009 г.

и через 5 лет после публикации рекомендаций ARRIVE - 2015 г.

*Leung V, Rousseau-Blass F, Beauchamp G, Pang DSJ (2018) ARRIVE has not ARRIVED: Support for the ARRIVE (Animal Research: Reporting of in vivo Experiments) guidelines does not improve the reporting quality of papers in animal welfare, analgesia or anesthesia. PLoS ONE 13(5): e0197882.*



Указан % статей в которых дано описание	ARRIVE		Non-ARRIVE	
	2009 (n=52)	2015 (n=61)	2009 (n=52)	2015 (n=61)
Название	100	100	100	100
Резюме	69	92	66	80
Научный фон	100	98	100	100
Объекты	90	98	100	100
Этическое заявление	75	85	37	82
Дизайн исследования	19	31	15	27
Экспериментальные процедуры	65	49	66	76
Экспериментальные животные	15	30	1,5	11
Проживание и уход за животными	3,9	21	4,5	15
Размер выборки	3,8	21	1,5	5,5
Рандомизация	21	26	21	31
Результаты	100	100	99	100
Статистические методы	44	48	56	58
Исходные данные	59	54	67	51
Критерии включения и исключения	56	64	54	46
Результаты и оценка	87	80	81	89
Неблагоприятные события	62	42	22	35
Детали неблагоприятных событий	86	61	44	83
Интерпретация/научные последствия	29	33	10	38
Обобщаемость/трансляционность	-	-	-	-
Финансирование	59	71	71	80



Гистограмма, описывающая отдельные пункты контрольного списка ARRIVE. Объединены данные по статьям, опубликованным в 2015 г. ARRIVE (n = 61) и nonARRIVE (n = 52).

Горизонтальные линии указывают пороги качества отчетности: отличное (> 80%), среднее (50–80%) и плохое (< 50%)\*.

	Раздел	2022	
1	Дизайн исследования	<p>«ARRIVE Essential 10»  <b>«Минимальные требования»</b></p>	
2	Размер выборки		
3	Критерии включения и исключения		
4	Рандомизация		
5	Ослепление		
6	Критерии оценки		
7	Статистические методы		
8	Экспериментальные животные		
9	Экспериментальные процедуры		
10	Результаты		
11	Реферат	<p>«Recommended Set»  <b>«Рекомендуемые требования»</b></p>	
12	Предпосылки		
13	Цели		
14	Этическое заявление		
15	Условия размещения и содержания животных		
16	Уход за животными и наблюдение		
17	Интерпретация / научное значение		
18	Возможность обобщения полученных результатов / трансляционность		
19	Регистрация протокола		
20	Доступ к данным		
21	Конфликт интересов		







# Зоотехния и ветеринарное обеспечение



1822

1876

- Первый закон в защиту животных в Британии
- Первый закон об опытах на животных

1966

1986

- Закон о благополучии животных в США
- Конвенция ETS N 123, Страсбург

2010

2017

- Директива 2010/63/EU Европейского парламента
- Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных, Россия

## ПРОЕКТ ДОКУМЕНТА:

**Правила ЕАЭС по работе с лабораторными животными в доклинических исследованиях - 2021**  
**на рассмотрении**





# Выбор тест-системы

In vitro  
Ex vivo  
In ovo.....

Принцип  
метода!

In vivo

Выбор  
вида!

Релевантность =  
трансляционность

ЛАБОРАТОРНЫЕ  
ЖИВОТНЫЕ  
ДЛЯ НАУЧНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ

?



Альтернативные  
тест-системы

???



# Пример выбора по релевантности

Теofilлин

I фаза метаболизма у человека - **CYP1A2 и CYP2E1**

Сходство с человеческим %

Изоферменты P-450	Мыши	Хомячки	Крысы	Морские свинки	Хорьки	Кошки	Собаки	Кролики	Свиньи	Обезьяны		
										Мартышки	Макака резус	Яванский макак
CYP1A2	73	50	75	77	75	80	82	75	81	88	93	95
CYP2E1	78	-	79	79	78	77	77	50	79	71	90	95



# Достижения и ближайшие цели GxP для устойчивого развития фармацевтической отрасли в ЕАЭС

GxP



**Отсутствие звеньев  
(стандартов)**

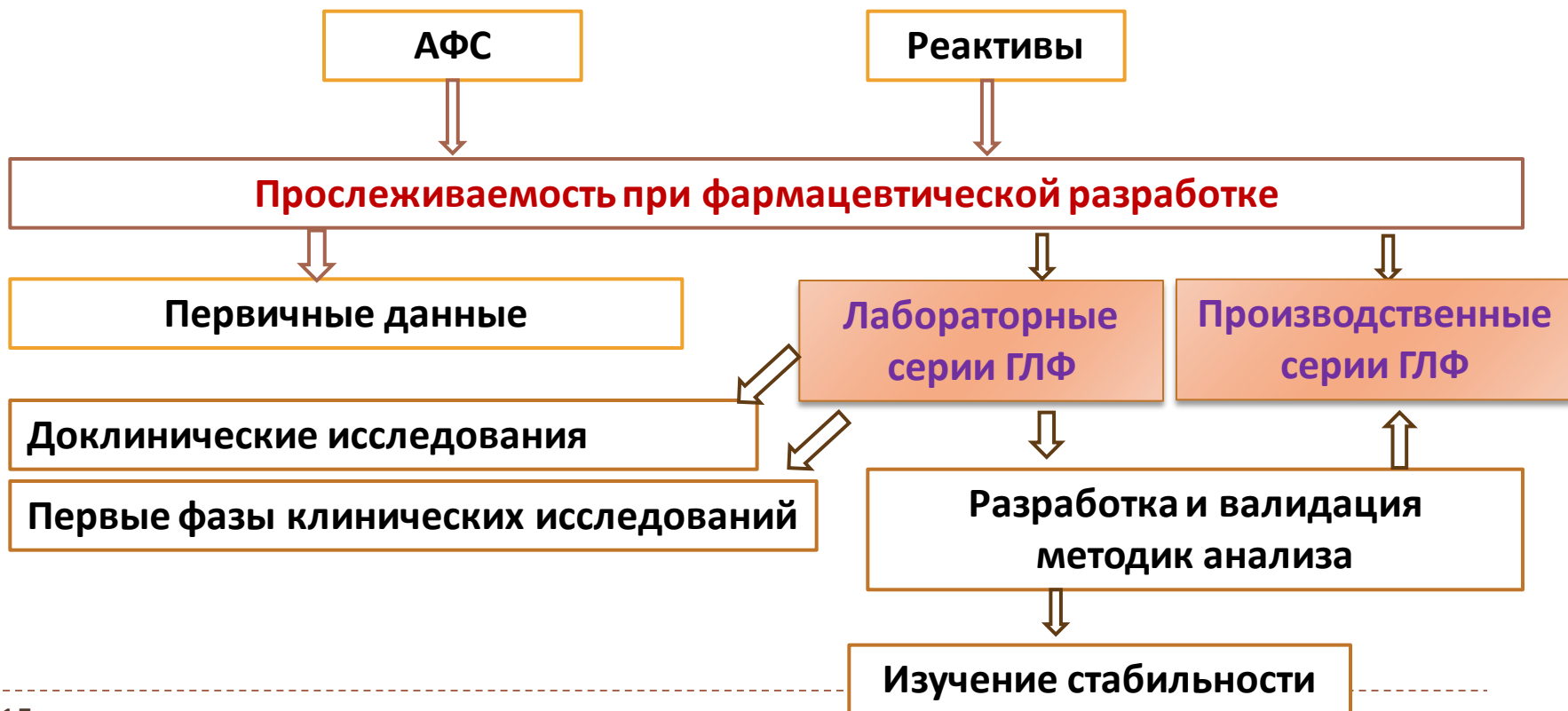
- Фармацевтическая разработка
- Благополучие животных

# Фармацевтическая разработка в системе надлежащих практик

GxP

**Прослеживаемость** - одно из ключевых требований в международных стандартах менеджмента качества

**Прослеживаемость в фармации** - это возможность отслеживания движения, местонахождения и происхождения ЛС на всех стадиях жизненного цикла



# Благополучие лабораторных животных

## Good animal welfare practice?





# Взаимодействие систем менеджмента качества

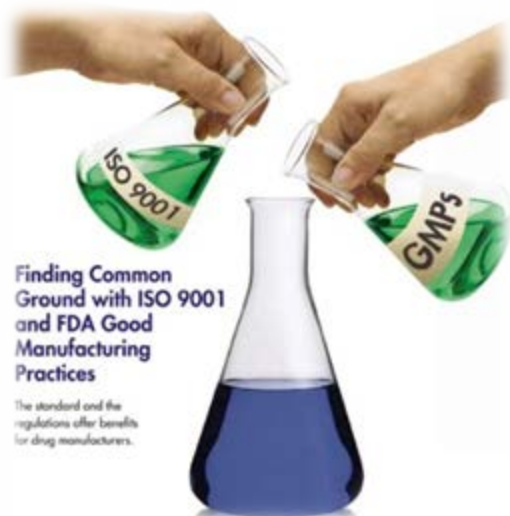
## ISO 9001

## GXP

Процесс-ориентированная СМК



Продукт-ориентированная СМК

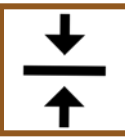


### Преимственность GxP

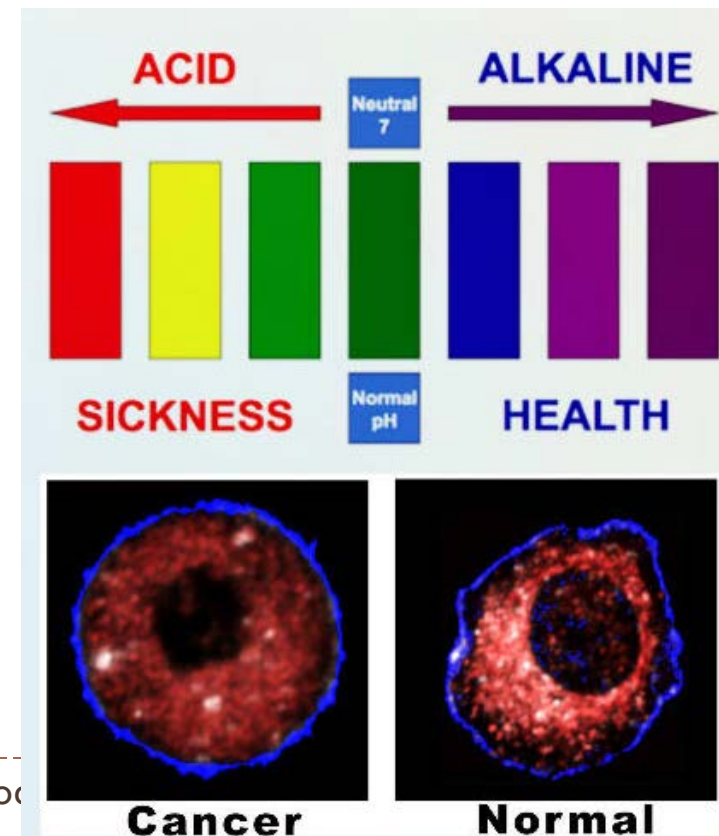
- Подготовка персонала?
- Стандартные образцы?
- Риск-ориентированные подходы?
  - Методы валидации?
- Хранение образцов (арбитраж)?

# Референтные интервалы.

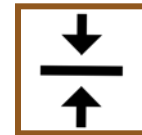
## Показатели нормы у лабораторных ЖИВОТНЫХ



- ▶ «Норма» и «патология» в лабораторной диагностике.
- ▶ Понятие о статистической и клинической значимости.
- ▶ Как быть с полуколичественными или бинарными ответами (Да/Нет)
- ▶ Понятие нормы в гистологических исследованиях
- ▶ Референтные интервалы при моделировании патологии – критерии успешности моделирования
- ▶ Фоновая патология, коэффициенты вариации
- ▶ Возрастная норма



# Референтные интервалы.

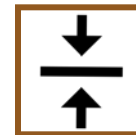


Вариабельность биохимических показателей крови яванских макак (n=73) в сопоставлении со справочными данными для людей

Показатель	CV (яванские макаки, собственные данные), %	CVG (люди), %
Креатинин	20,9	12,9
Мочевина	42,6	18,3
Аспартатаминотрансфераза	25,5	17,9
Аланинаминотрансфераза	39,2	41,6
Щелочная фосфатаза	51,1	35,6
Холестерин	29,0	15,2
Триглицериды	49,4	37,2
Общий белок	8,5	4
Альбумин	12,5	4,2
Глюкоза	28,6	7,7
Общий билирубин	37,5	30,5
Креатинкиназа	52,8	40
Лактатдегидрогеназа	28,4	14,7

# Референтные интервалы.

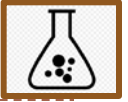
## Показатели нормы у лабораторных животных в тесте открытое поле, $n=20$ , $C_v$



Место проведения теста	Пол животного	Количество посещенных квадратов, %	Количество пристеночных стоек, %
АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»	самцы	47	36
	самки	47	47
ФГБОУ ВО «СПХФУ»	самцы	28	25
	самки	47	41

Коэффициенты вариации для аналитических и биоаналитических методик не должны превышать 20%

# Обеспечение качества в лабораториях разного типа



- ▶ Доклиническая исследовательская лаборатория (in silico, in vitro, ex vivo, in vivo);
- ▶ Аналитическая и технологическая лаборатории;
- ▶ Биоаналитическая лаборатория;
- ▶ Клинико-диагностическая лаборатория;
- ▶ Лаборатория патоморфологии и гистологии;
- ▶ Лаборатория контроля качества.



# Критические аспекты, применимые к любой лаборатории

---



- ▶ Персонал
- ▶ Помещения
- ▶ Оборудование
- ▶ Планирование и организация работ
- ▶ Отсутствие конфликта интересов
- ▶ Наличие «**стандартных методов**» или «**стандартных методов**» для разработки «**стандартных методов**»

# OECD Position Paper Regarding the Relationship between the OECD Principles of GLP and ISO/IEC 17025, Number 18, 2016 (Документ с изложением позиции ОЭСР в отношении взаимосвязи между принципами GLP ОЭСР и ISO/IEC 17025)



Ключевые моменты	I 7025	GLP
История	Начало разработки – 1978 Введение в действие - 1999	Начало разработки – 1970 Введение в действие - 1981
Разработчик	Сообщество по аккредитации лабораторий	Регулятор
Применение	Любые исследования	Доклинические исследования по безопасности для здоровья и окружающей среды
В центре внимания	Непрерывная работа и управление самой лабораторией, а также способность лаборатории давать последовательные и надежные результаты, имеющие научную ценность	Индивидуальное исследование, а также администрирование и управление проведением исследования, а не наука о проводимом исследовании
Особенности	Лаборатории проводят анализы на регулярной основе в соответствии с определенной методологией, где тип тестируемого образца и используемые методы тестирования мало меняются изо дня в день. Не учитывается изменчивость (тест-систем, исследуемого вещества и т.п.).	Каждое исследование = новое исследуемое вещество. Анализы в рамках каждого исследования будут варьироваться от исследования к исследованию, и их нельзя будет использовать снова после завершения набора тестов. Могут проводиться не в лабораторных, а полевых условиях.



## Типы процессов

Основные процессы	<ul style="list-style-type: none"><li>• Через них проходит основной продукт</li><li>• Добавляют продукту <b>ценность</b></li><li>• Результат получает потребитель</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• ВЫПОЛНЕНИЕ НИР</li></ul>
Вспомогательные процессы (центры издержек)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Не касаются основного продукта</li><li>• Добавляют продукту <b>стоимость</b></li><li>• Результат получает основной процесс</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Система менеджмента качества</li><li>• Обучение персонала всех уровней</li><li>• Мониторинг здоровья животных</li><li>• Мониторинг окружающей среды</li><li>• Аудиты поставщиков услуг</li><li>• Фармацевтическое сопровождение</li></ul>



# Технологические процессы в доклинических исследованиях



Содержание

Кормление  
поение

Лечебно-  
профилактические  
мероприятия

**Выход процессов**



**качественные тест-системы**

Воспроизводство

Биобезопасность



# Риск-ориентированный подход



## Кормление поение

Недокормленные/перекормленные  
животные, корма или вода,  
содержащие патогены =  
**некачественные животные,  
гибель животных**

## Лечебно- профилактические мероприятия

Больные животные,  
животные  
испытывающие боль,  
стресс =  
**некачественные  
животные, гибель  
животных**

## Содержание

Нарушение микроклимата,  
побег животных,  
проникновение диких  
животных, некачественный  
подстил или обогащение  
среды =  
**некачественные животные,  
гибель животных**



## Воспроизводство

Недостаточно животных для  
исследования, больные животные,  
с генетическими нарушениями =  
**некачественные животные, гибель  
животных**

## Биобезопасность

Зараженные животные =  
**некачественные животные, гибель  
животных**  
**Заражение персонала**

# Риск-ориентированный подход

## Выбор испытательного центра

---



- ▶ Макарова М.Н. Аудит доклинического центра: система координат. Лабораторные животные для научных исследований. 2019; 1.  
<https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-01-05>
- ▶ Реестр испытательных центров <http://glp-planet.com/>
- ▶ Стоимость научно-исследовательских работ в области доклинических исследований  
<https://gxpnews.net/2020/09/stoimost-nauchno-issledovatel'skix-rabot-v-oblasti-doklinicheskix-issledovanij/>

# Риск-ориентированный подход. Спонсор! Доверяй! Проверяй! Участвуй!

---



Потенциальное влияние спонсоров на результаты доклинических исследований является важным вопросом и недостаточно освещено и разъяснено в принципах и руководствах GLP!



**Действия и поведение спонсора могут поставить под угрозу статус соответствия исследований GLP и/или целостность данных и результатов исследования.**

OECD SERIES ON PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE AND COMPLIANCE MONITORING  
Number 21, 2020

**OECD Position Paper Regarding Possible Influence of Sponsors on Conclusions of GLP Studies**

Документ с изложением позиции ОЭСР в отношении возможного влияния спонсоров на выводы исследований GLP



# Необходимость в рамках ЕАЭС



Страны ОЭСР имеют

Страны ЕАЭС

## Соглашение о взаимном признании данных (Mutual Acceptance of Data – MAD)

Для вступления необходимо:

1. Соответствовать Принципам надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice – GLP)
2. Гармонизировать свои государственные руководства по тестированию химических веществ с руководствами ОЭСР.



Необходимо **создание аналога MAD** по взаимному признанию данных в рамках ЕАЭС.

Следует определить условия, при которых доклинические исследования, проведенные в стране-члене ЕАЭС должны быть приняты для целей регулирования принимающими органами в других странах.

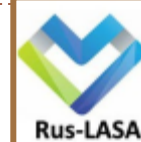


# Workshop: Надлежащее содержание лабораторных животных



- ▶ Компания АНО «Аналитика и Высокие Технологии» предоставляет профессиональные комплексные решения «под ключ» по созданию и оснащению экспериментально биологических клиник (вивариев), лабораторий различного профиля, чистых помещений и др. специализированных объектов, а также по проведению реконструкции существующих объектов в соответствии с современными требованиями. Оперативная работа с соблюдением всех технологических регламентов и стандартов обеспечивает высокие результаты и положительные отзывы клиентов.
- ▶ АНО «АВТех» является производителем высокотехнологичного лабораторного оборудования: системы индивидуально вентилируемых клеток, оборудование для эвтаназии лабораторных животных, многоярусные клетки для лабораторных кроликов, модульные чистые зоны, ламинарные станции, воздушные шлюзы, фильтровентиляционные установки для чистых помещений, климатические камеры, оборудование для исследования растений (фито стеллажи, аэро-гидропонные установки, светильники с управляемым спектром и др.).

# *Workshop: Оценка степени тяжести экспериментальных процедур в исследованиях на животных*



Ассоциация специалистов  
по лабораторным животным

- ▶ Ассоциация специалистов по лабораторным животным (Rus-LASA) основана в 2011 году для объединения исследователей, ветеринарных врачей, руководителей вивариев, персонала по уходу за животными и других специалистов, работающих с лабораторными животными, и для распространения современных знаний о лабораторных животных и гуманных методах работы с ними в Российской Федерации.
- ▶ В 2014 году Rus-LASA стала членом Федерации европейских ассоциаций по науке о лабораторных животных ([FELASA](#)) и Международного совета по науке о лабораторных животных ([ICLAS](#)).

# Workshop: Альтернативные методы исследования



- ▶ In silico?
- ▶ In vitro?
- ▶ Ex vivo?
- ▶ In ovo?
- ▶ In vivo?

## Метод?

Его надежность?  
Применимость?  
Валидируемость?  
Регулируемость?  
Признание результатов?

## Рандом

Рандом (сущ.) - красивое название для метода тыка.





---

# СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

