

Преимущества и недостатки технологий *in vitro/ ex vivo/ in vivo*, на примере моделирования заболеваний кишечника



«Три кита» ДКИ



In vitro



Ex vivo



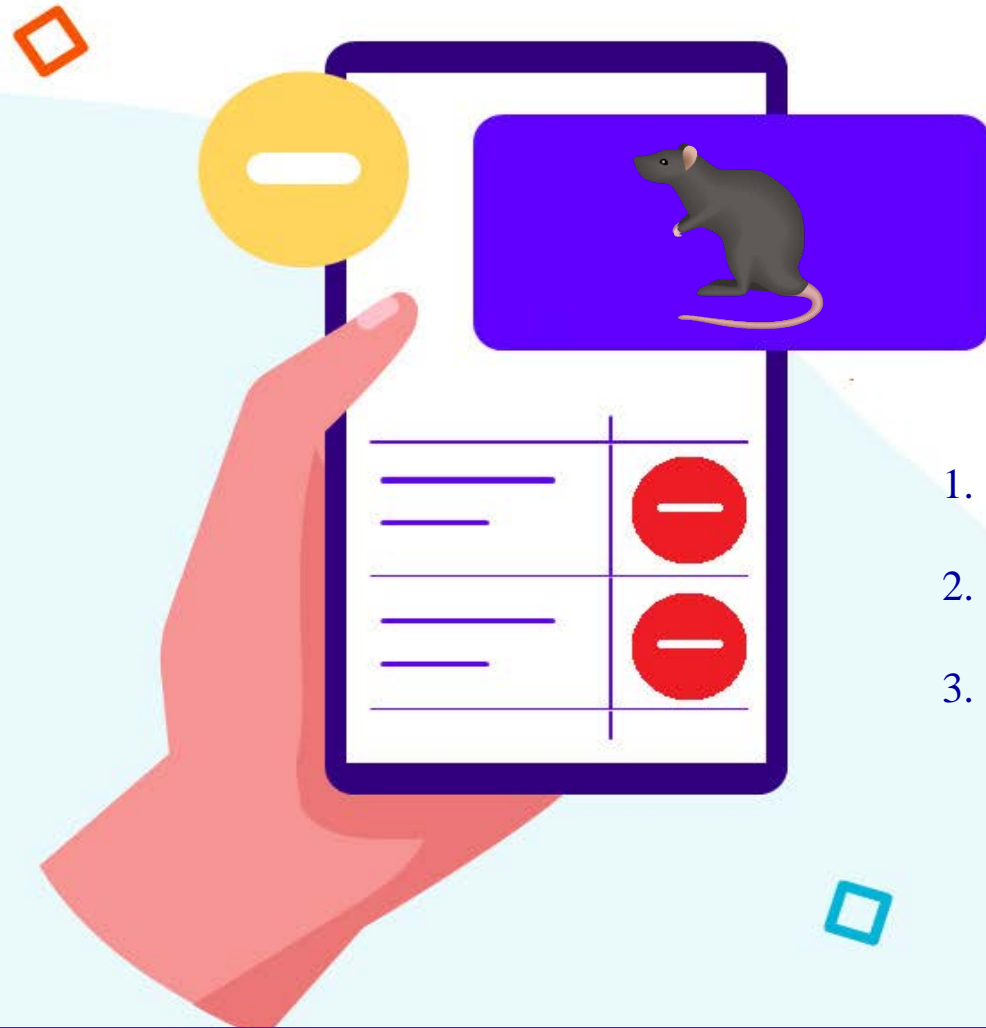
In vivo

In vivo методология. Преимущества



1. Изучение эффектов с учетом влияния **всех** систем организма
2. **Модельные** патологии
3. **Комплексная оценка** рамках ФД и ФК исследований

In vivo методология. Недостатки



1. Невозможно отследить **конкретные механизмы**
2. Очень **большое количество факторов** влияет на результат
3. Невозможность **стандартизации**

Ex vivo методология. Преимущества и недостатки



1. Детализация механизмов, полученных в *in vitro* исследовании
2. Модификация клеток живого организма
3. Возможна частичная стандартизация *in vivo* процессов



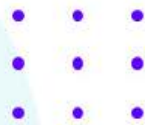
1. НЕ учитывает гормональных и гуморальных влияний
2. Сложности в контроле степени чистоты генно-модифицированных продуктов

In vitro методология. Недостатки



1. Изучение **отдельных** механизмов
2. Принципы **RRR**
3. Возможность работы с клетками **человека**
4. Возможна **стандартизация**
5. **Минимизация** влияния различных факторов

In vitro методология. Преимущества

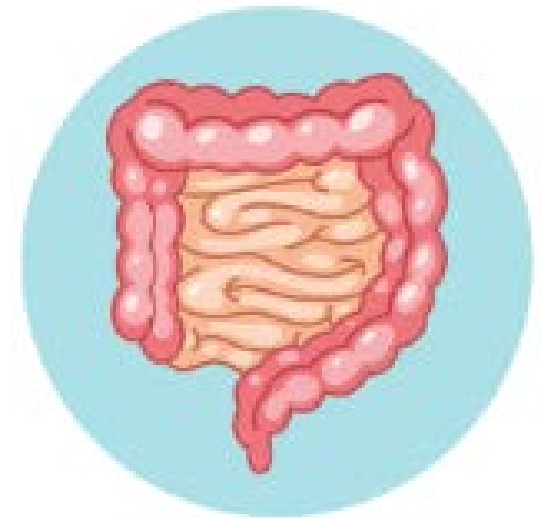


1. Не учитывает влияния микроокружения клеток
2. Не учитывает системного влияния
3. Невозможность полного **воссоздания** патологии



Моделирование функциональных патологий кишечника

? ? ?



Синдром раздраженного кишечника



Начиная с **2016 г.** наблюдается рост интереса к разработке препаратов для лечения **СРК**

В **2023 году** компания **DelveInsight** опубликовала отчет, в котором представлены более 24 компаний и более 24 разрабатываемых препаратов для лечения СРК.

In vivo модели СРК

Модели висцеральной боли



A.

- Механически-индуцированные

B.

- Химически-индуцированные

C.

- Стресс-индуцированные

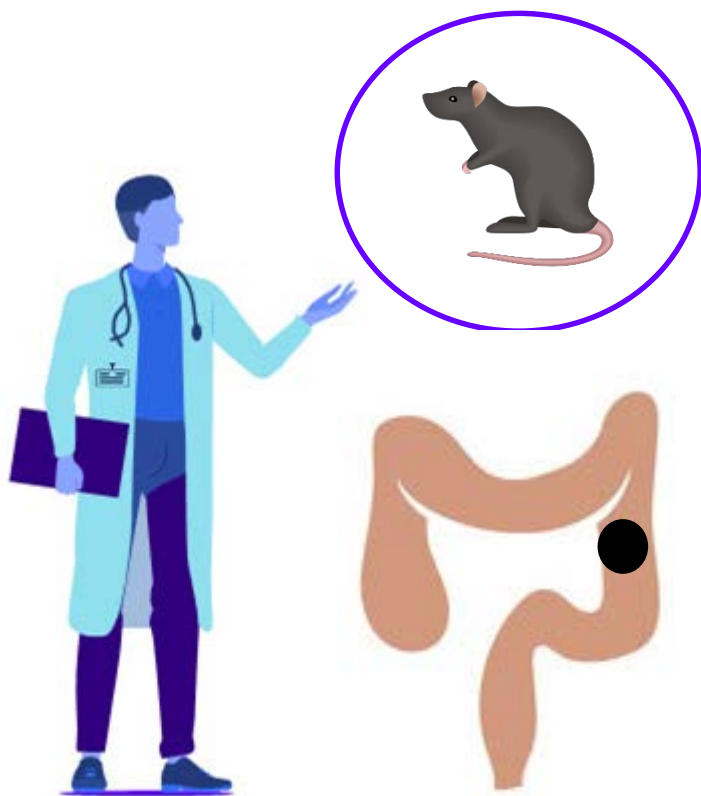
D.

- LPS-индуцированные

Camilleri M., Bueno L., Andresen V., De Ponti F., Choi M.-G., Lembo A. Pharmacological, Pharmacokinetic, and Pharmacogenomic Aspects of Functional Gastrointestinal Disorders. 2016. – Gastroenterology. 2016 Feb 18;S0016-5085(16)00220-1

Vannucchi M. G., Evangelista S. Experimental Models of Irritable Bowel Syndrome and the Role of the Enteric Neurotransmission J Clin Med. 2018 Jan; 7(1): 4

Модель кишечного транзита угольной метки



Оценка изменения моторики кишечника по длительности пассажа угольной метки

Используется в двух вариантах:

- Моторика не изменена
- Моторика индуцирована или ингибирована фармакологически

Модель диареи индуцированной 4% уксусной кислотой + хронический стресс



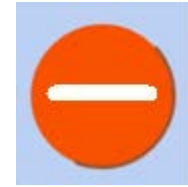
Оценка изменения моторики кишечника
по изменению консистенции каловых
масс

- **Выраженность стресса варьирует у разных животных**
- **Сложность контроля условий проведения эксперимента**

Резюме по *in vivo* моделям



- Позволяют учитывать стрессовые воздействия
- Возможность оценки эффекта с учетом всего ЖКТ



- Нельзя ограничиваться одной моделью
- Риск не срабатывания препарата на человеке с учетом разницы работы системы ЖКТ человек-животное

Группы препаратов, показавшие эффективность как на *in vivo* моделях, так и у пациентов в клинических испытаниях



5-НТ4 - агонисты



**Агонисты
опиоидных
рецепторов**



5-НТ3 - антагонисты



**Агонисты
рецептора
гуанилатциклазы
C**

Группы препаратов, НЕ показавшие эффективность у пациентов в клинических испытаниях но эффективные на моделях *in vivo*

β3-адреномиметики

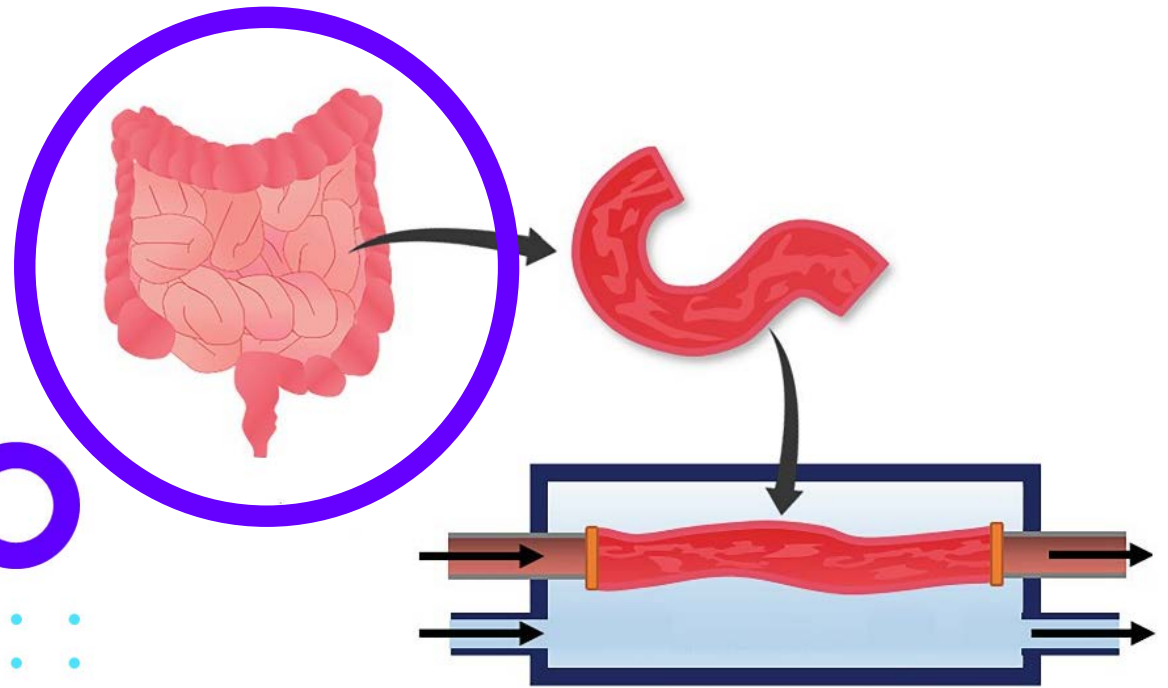


NK2 - антагонисты



Ex vivo модели

Поддержание
жизнеспособности
органа до 12-и часов

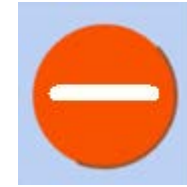


Оценка изменения
моторики кишечника в
режиме **real-time** записи

Резюме по *ex vivo* моделям

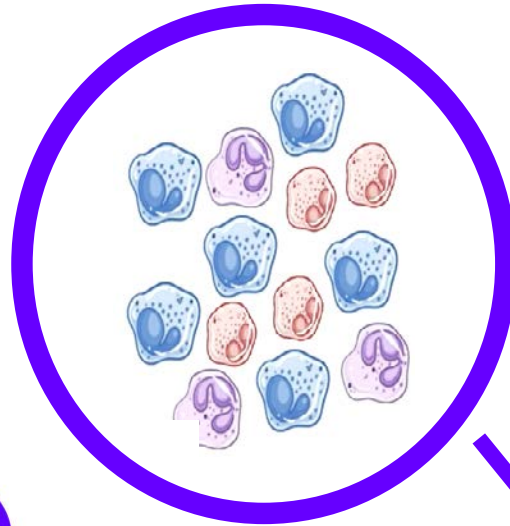


- Возможность увидеть «чистый» эффект препарата в режиме *real-time*
- Стандартизация процессов оценки эффектов
- Сохранение 3D организации органа



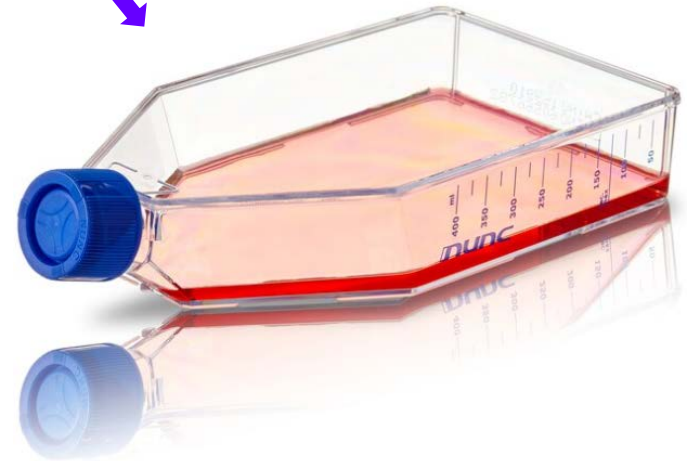
- Ограниченное время жизнеспособности органа
- При использовании органов животных нет гарантии срабатывания на человеке с учетом разницы работы системы ЖКТ человек-животное

In vitro модели 2D культивирования



Клеточные линии:

- Caco-2
- HT-29
- T-84
- IEC



Резюме по *in vitro* модели 2D культивирования



- Простота и стандартизуемость метода
- Подходит для быстрого и недорогого скрининга молекул
- Возможность использования **клеток человека**



- Не повторяет морфологии органа
- Не учитывает микроокружения клеток
- Не дает **полной картины эффектов**

In vitro модели мембранного 3D культивирования



Резюме по *in vitro* модели 3D культивирования



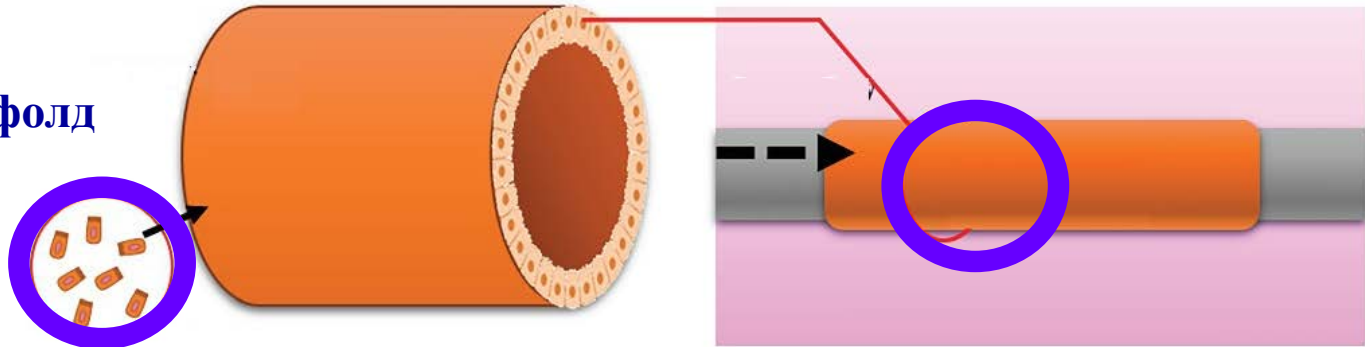
- Стандартизуемость метода
- Возможность использования клеток человека
- Учитывает микроокружение клеток и частичную морфологию органа



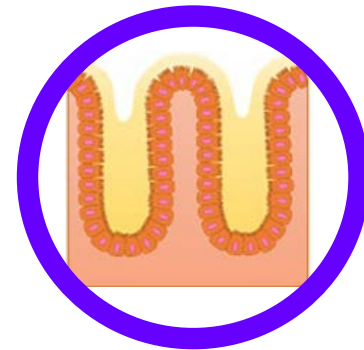
- Не дает полной картины эффектов
- Сложности при культивировании
- Неполная картина морфологии органа

In vitro модели 3D-скаффолд культивирования

3D-скаффолд



3D-скаффолд в культуральной системе



Резюме по *in vitro* модели 3D-скаффолд культивирования



- Стандартизуемость метода
- Возможность использования клеток человека
- Учитывает микроокружение клеток и морфологию органа



- Не дает полной картины эффектов
- Сложности и дороговизна при культивировании
- Не учитывает влияния других систем

Этапы ДКИ при планировании дизайна



01 In vitro поиск активной молекулы

02 In vitro проверка основных механизмов

03 Ex vivo детализация механизма

04 In vivo проверка активности на релевантном виде



Комплексный подход повышает шанс удачного завершения КИ



Благодарю за внимание!

