

А. С. Хромов

Общая фармакологическая безопасность и сердечно-сосудистая система

Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

Ключевые слова: общая фармакологическая безопасность, лекарственное средство, сердечно-сосудистая система

Общая фармакологическая безопасность (ОФБ) или Safety Pharmacology – это молодая, быстро развивающаяся дисциплина. Используя методы фармакологии в нормативных управляемых процессах, она позволяет получать данные для оценки профиля безопасности потенциального лекарственного средства (ЛС). Целью ОФБ является выявление на стадии доклинического изучения возможных побочных эффектов ЛС. При этом прогнозирование таких эффектов строится на основании результатов оценки соотношения фармакодинамических и фармакокинетических характеристик исследуемого вещества.

В отличие от классической фармакологии, исследования общей фармакологической безопасности позволяют предсказать риск развития серьезных (тяжелых) побочных реакций, включая смертельный исход. Дизайн самого исследования определяется соответствующими нормативными требованиями для проведения таких исследований, что придает ОФБ уникальный характер.

Ключевыми задачами для ОФБ являются обнаружение возможного неблагоприятного эффекта ЛС, определение границ безопасности и, наконец, обоснование безопасности клинических испытаний. Иными словами, ОФБ – это дисциплина, которая стремится предсказать, будет ли безопасным препарат (в самом широком смысле этого слова) при введении его животному или человеку.

Цель исследования – ознакомить с историей возникновения и современны-

ми требованиями к организации исследований, выбору моделей, обработке полученных данных при доклинической оценке общей фармакологической безопасности лекарственных средств для сердечно-сосудистой системы.

До 1990 года фармацевтические компании проводили токсикологические исследования в рамках доклинической разработки лекарственных средств. Вместе с тем, становилось все более очевидным, что редкие побочные эффекты (от незначительных до потенциально смертельных) лекарственного препарата могут выявляться даже во время III и IV фазы клинических испытаний. Для выявления и подтверждения существования редких неблагоприятных эффектов ЛС после утверждения его использования человеком требуется тщательный и длительный контроль со стороны регулирующих органов. Когда неблагоприятное воздействие является очень редким, могут потребоваться миллионы введений ЛС, прежде чем такой эффект будет установлен. В литературе есть множество таких примеров, из которых одним из наиболее показательных является случай, связанный с терфенадином.

О том, что задержка реполяризации желудочков может быть причиной развития синдрома трепетания-мерцания желудочков/torsades de pointes (ТМЖ) было известно давно. Однако до 1996 года «кардиотоксическое» действие терфенадина не связывали с этим явлением [1]. Широкое внимание, в том числе и производителей, к сути этой проблемы привлек М. Rosen, опубликовав анализ представленных в литературе данных [2]. До этого времени существовало мнение, что такой активностью могут обладать только соединения, предназначенные для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Влияние терфенадина на продолжительность интервала QT является незначительным, а сам эффект может проявляться в отдаленные сроки лечения, что и обусловило трудность его обнаружения даже при тщательном клиническом наблюдении [3]. Возможно эта проблема и не возникла, если бы вместо обычного токсикологического исследования проводилась конкретная оценка вероятности возникновения ТМЖ при использовании новых лекарств, но в начале 1990-х годов вопрос о биомаркерах для прогнозирования этого редкого неблагоприятного эффекта ЛС не был актуальным.

Этот и подобные ему случаи послужили толчком к возникновению и развитию того направления в фармакологии, которое сейчас называется общей фармакологической безопасностью. Предсказать риск возникновения вызванного терфенадином ТМЖ обычными методами доклинических испытаний было невозможно, поскольку стандартные доклинические токсикологические исследования проводятся с использованием высоких и очень высоких доз. Характер нежелательных эффектов вещества, в лучшем случае, можно выявить при его введении в максимальной курсовой дозе, что не позволяет предвидеть (спрогнозировать) возможность возникновения редкого смертельного побочного эффекта при использовании ЛС в терапевтических дозах [4].

Эти обстоятельства предопределили в начале нашего века превращение ОФБ в самостоятельную дисциплину, призванную преодолеть разрыв между доклинической токсикологией, доклинической и клинической разработкой ЛС.

В идеале исследование ОФБ должно позволить:

- определить ту фармакологическую активность потенциального ЛС, которая может увеличить риск развития побочных реакций у пациентов;
- охарактеризовать степень безопасности такой фармакологической активности;
- оценить относительную эффективность потенциального ЛС;
- изучить механизм действия.

Основной задачей, которую должны решать исследования ОФБ, является выявление неблагоприятных эффектов потенциального ЛС на доклинической стадии разработки для предотвращения смертельных осложнений. Чем раньше будет принято решение о потенциальной смертельной опасности препарата, тем раньше компания сможет изменить свою стратегию поиска новых ЛС. Безусловно, о реальной безопасности ЛС для человека можно будет судить только после проведения мета-анализа клинических испытаний. Понятно, что компании с ограниченными ресурсами могут работать по принципу «только то, что требуется». Напротив, крупные фармацевтические компании могут и будут вкладывать больше средств в проведение комплексного (всеобъемлющего) изучения вещества, обеспечивающего возможность наиболее достоверного предсказания реакций человека на ЛС. По сути, богатые компании могут быть менее безжалостными в отношении прекращения разработки потенциального ЛС, пытаясь путем расширения исследований извлечь пользу из обнаруженных недостатков. Тщательно изученный профиль безопасности обеспечит снижение вероятности неуместного прекращения разработки того вещества, которое со временем может стать терапевтически полезным лекарством [5].

Можно ожидать, что результаты изучения ОФБ, достаточные для принятия обоснованного решения, будут получаться еще на стадии доклинических испытаний потенциального ЛС. Результаты большинства исследований по оценке фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы не публикуются в научной литературе, хотя некоторые сообщения становятся доступными после утверждения нового препарата.

Отсутствие в настоящее время безупречных количественных прогностических критериев привело к появлению серии производственных и законодательных инициатив (табл. 1). Наиболее важными из них являются руководства, принятые на Международной конференции по гармонизации (ICH). В

работе ICH принимали и продолжают принимать участие представители регуляторных органов США, Европы и Японии, а также эксперты в области фармацевтической промышленности. Такая совместная работа привела к появлению 2 руководств (S7A и S7B), определяющих минимальный объем исследований [6, 7]. Важным примером использования результатов доклинических исследований для прогнозирования эффектов в более поздних клинических исследованиях является их применение для предсказания результатов исследования с тщательной оценкой интервала QT, которое требуется для большинства новых лекарственных препаратов в соответствии с требованиями руководства ICH E14 [8].

Появление этих руководств перевело исследования общей фармакологической безопасности потенциальных ЛС из чисто научной проблемы в область нормативного регулирования с целью всесторонней оценки безопасности потенциального ЛС на основе фармакодинамических конечных точек, в отличие от гистопатологических конечных точек, используемых в традиционных исследованиях для оценки токсичности.

Следует отметить, что тестирование вещества-кандидата в отношении действия на сердечно-сосудистую систему не является новой задачей. Влияние нового агента на артериальное давление и частоту сердечных сокращений регулярно оценивалось в течение мно-

гих десятилетий, задолго до появления руководств ICH. Первая реальная попытка создания сбалансированной системы тестирования была реализована в Японии [9]. Положения этого руководства делали необходимым изучение не только влияния потенциального ЛС на сердечно-сосудистую систему, но и его эффектов, связанных с воздействием на вегетативную нервную систему и гладкие мышцы.

Ключевой частью процесса разработки лекарств является получение убедительных для регуляторного органа данных в отношении безопасности и эффективности препарата. В руководстве ICH S7A определены следующие этапы исследований: 1) основной набор тестов («core battery»); 2) дальнейшие исследования; 3) дополнительные исследования. Второй и третий этапы предназначены для расширенного изучения влияния потенциального ЛС на функциональные системы организма в случае необходимости охарактеризовать конкретные неблагоприятные эффекты, обнаруженные в ходе первоначальных исследований.

Основной набор тестов предполагает оценку влияния потенциального ЛС на *центральную нервную систему* (моторная активность, поведенческие реакции, координация, сенсорные/моторные рефлексы (модифицированный Ирвин-тест), *сердечно-сосудистую систему* (артериальное давление, частота сердечных сокращений, электрокардиограмма) и *систему дыхания* (частота дыхательных

Таблица 1

Важнейшие нормативные документы

№	Наименование
1	Japanese Guidelines for Nonclinical Studies of Drugs Manual 1995. Yakuji Nippo Limited, Tokyo, Japan, 1995
2	Committee for Proprietary Medicinal Product. Points to Consider. The Assessment of QT Interval Prolongation by Noncardiovascular Medicinal Products. CPMP/986/96, 1997
3	ICH S7A Guideline Step 5. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals
4	ICH S7B Guideline Step 2 Revision. The Nonclinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals
5	ICH E14 Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs

движений и дыхательный объем/минутная вентиляция легких).

Сходство способов проведения исследований (моделирование патологических процессов на животных) рождает проблему, характерную и для общей фармакологии, и для ОФБ, – насколько эти модели позволяют точно и достоверно охарактеризовать действие нового ЛС. Речь идет о выявлении и использовании клинически значимых параметров. Как правило, в этом качестве выступают биомаркеры (суррогатные конечные точки). Например, ингибирование киназ в качестве биомаркера для противоопухолевых препаратов [10] или блокада hERG K⁺-каналов для прогноза развития синдрома трепетания-мерцания желудочков [11, 12].

Как отмечает R. D. Sarazan с соавт. (2011 г.), в настоящее время отсутствуют детальные стандарты для этих конечных показателей фармакологической безопасности в неклинических исследованиях. Неопределенная вероятность обнаружения эффекта заданной величины не позволяет оценить способность даже хорошо спланированных доклинических исследований, проведенных на здоровых животных или животных с моделями патологии, надежно предсказать результат. Кроме того, для каждого такого исследования существуют внешние ограничения и ограничения экспериментального дизайна, которые делают маловероятной возможность их полноценного осуществления в соответствии с требованиями директивных руководств [13].

Новые руководства по общей фармакологической безопасности, несомненно, являются важными, однако их следует учитывать лишь в контексте общего подхода к изучению профиля безопасности ЛС [14]. Было бы ошибочным считать их основополагающим документом, выполняя лишь указанные основные исследования и надеясь на то, что адекватный профиль будет изучен кем-то в будущем. Такие руководства, как ICH S7A, S7B и E14 носят очень общий характер и не могут точно указывать, какие исследования являются целесообразными при разработке того или иного соединения. Движущей

силой при выборе исследований должны являться научные фармакологические знания, а всю ответственность за этот выбор должен нести спонсор таких исследований.

Побочные эффекты со стороны сердечно-сосудистой системы продолжают оставаться существенной причиной отказа от соединений как в период их разработки, так и уже после поступления готовых лекарственных средств на фармацевтический рынок [15]. Однако в клинических исследованиях в рамках I фазы испытаний серьезные сердечно-сосудистые побочные явления возникают относительно редко. Иными словами, исследования по изучению ОФБ в отношении ССС, хотя и могут позволить обнаружить эффекты, способные привести к неблагоприятным осложнениям в клинических исследованиях I фазы, но не позволяют предсказать или полностью оценить потенциальные эффекты в более широкой популяции пациентов [16]. Понятно, что вопрос об отказе от препарата может возникнуть на всех стадиях разработки ЛС. Выявление ранее неизученных терапевтических мишеней для известного ЛС иногда сопровождается повышенным риском для ССС [17]. Поэтому оценка безопасности потенциального ЛС для сердечно-сосудистой системы является чрезвычайно актуальной.

Для решения этой проблемы требуется хорошо разработанная, устойчивая методическая система с известной чувствительностью. Интерпретация результатов таких исследований в значительной степени зависит от используемых экспериментальных моделей. Вместе с тем, исследования для оценки фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы являются исследованиями, позволяющими с высокой точностью переносить данные с животных на человека при условии использования одинаковых конечных параметров и при измерении у животных и человека нескольких показателей деятельности сердечно-сосудистой системы, а не только интервала QT. В случае небольшого количества тестируемого вещества важная информация может быть получена в условиях *in vitro*, например, на специа-

лизированной культуре для выявления задержки реполяризации желудочков или с использованием изолированных органов (табл. 2) [14].

Моделирование на животных является важным аспектом исследований сердца, в которых могут быть изучены различные процессы и определены терапевтические цели. Несмотря на сохранение в процессе эволюции сходства параметров сердечно-сосудистой системы человека и животных, существуют различия, зависящие от конкретного вида животного. Эти различия могут быть менее или более выраженными, иными словами, не существует идеальной модели для исследования сердечно-сосудистой системы.

Одной из основных проблем в решении вопроса о выборе вида животного

является то, что сердечно-сосудистая система каждого вида развивалась по-разному для того, чтобы удовлетворить потребности этого вида [18]. Сердце маленького животного, такого как мышь, может легко сокращаться до 800 раз в 1 мин [19], а у слона частота сердечных сокращений только 35 ударов в 1 мин [20]. В таблице 3 показана обратная зависимость между массой тела и частотой сердечных сокращений, в то время как давление крови остается относительно постоянным для различных лабораторных животных и людей [21].

На самом деле, отношения между массой тела (МТ) и некоторыми параметрами сердечно-сосудистой системы можно описать с помощью аллометрических уравнений, таких как масса

Таблица 2

Методы оценки задержки реполяризации желудочков (исследования потенциал-зависимых K⁺-каналов ex vivo)

Наименование	Метод
Оценка пропускной способности канала	– Конкурентное связывание – Введение рубидия – Потенциал-зависимое флуоресцентное окрашивание – Автоматизированная patch-clamp система
«Золотой стандарт»	Мануальные patch-clamp исследования с использованием: – ооцитов – гетерологичных клеток – изолированных миоцитов
Определение потенциала действия (аналитические системы)	– Изолированные миоциты – Волокна Пуркинье – Папиллярные мышцы – Изолированное сердце (препарат Лангендорфа для определения монофазного потенциала действия)

Таблица 3

Сравнительная характеристика параметров сердечно-сосудистой системы животных и человека

Вид	Масса тела, кг	Частота сердечных сокращений, уд · мин ⁻¹	Систолическое давление, мм рт. ст.	Диастолическое давление, мм рт. ст.
Мыши	0,020–0,063	310–840	113–160	81–110
Крысы	0,225–0,520	250–493	84–184	58–145
Кролики	1–6	130–300	90–130	60–90
Собаки	7–16	70–160	95–136	43–66
Овцы	20–160	60–120	91–116	102
Свиньи	200–300	50–116	135–150	–
Человек	50–86	72	120	80

сердца (τ) = $6,0 \cdot \text{MT}^{0,98}$ или P-R интервал (мс) = $53 \cdot \text{MT}^{0,24}$, где MT масса тела в килограммах [22, 23].

В условиях *in vivo* и *ex vivo* модели на крупных животных больше похожи на человека, чем на мелких. Вместе с тем, давление, создаваемое в полости левого желудочка, остается относительно постоянным среди видов. Эти различия кинетики давления и силы сокращения представлены на рисунке.

Использование животных любого вида имеет свои собственные преимущества и недостатки. Поэтому исследования по оценке ОФБ для сердечно-сосудистой системы не должны ограничиваться моделированием патологического процесса на одном виде животных для решения всех вопросов. Выбор модели должен зависеть от различных факторов. Важно, но и не ограничивается этим: 1) Какой процесс исследуют и 2) На каком этапе проводится исследование (предварительное или доклиническое).

Само моделирование как на мелких, так и на крупных животных имеет специ-

фические сильные и слабые стороны. Кроме того, использование человеческих тканей, если таковые имеются, может помочь с точностью прогноза для последующего клинического применения.

На ранних этапах разработки ЛС приемлемые данные могут быть получены и с применением мелких лабораторных животных, таких как крысы или морские свинки. Следует сразу оговориться, что наблюдаемая тенденция отказа от крыс при решении вопроса о наличии у вещества эффектов, зависящих от реполяризации миокарда, вовсе не исключает использование этих животных для других целей. В пользу использования крыс следует привести следующие аргументы:

- данные о фармакокинетике ЛС и его влиянии на процессы метаболизма, как правило, получают при использовании крыс;
- использование крыс в токсикологических исследованиях позволяет прицельно (по результатам этих исследований) оценить влияние терапевтических/нетоксических доз ЛС на параметры сердечно-сосудистой системы;
- исследования с использованием не грызунов, а других животных (обычно собак) требуют значительно большего количества тестируемого соединения.

Моделирование патологических процессов у крыс по-прежнему обеспечивает получение полезной информации о влиянии ЛС на системную гемодинамику [24].

Альтернативой крысам являются морские свинки с имплантированным датчиком для регистрации ЭКГ и некоторых параметров центральной гемодинамики [25]. Была показана адекватность использования как бодрствующих, так и наркотизированных животных [26, 27].

Таким образом, с целью оптимизации отбора и подробного фармакологического изучения потенциального ЛС исследования на крысах имеют неопределимое значение с единственным ограничением использования крыс для оценки воздействия ЛС на реполяризацию желудочков за счет блокады hERG-опосредованного тока калия [14].

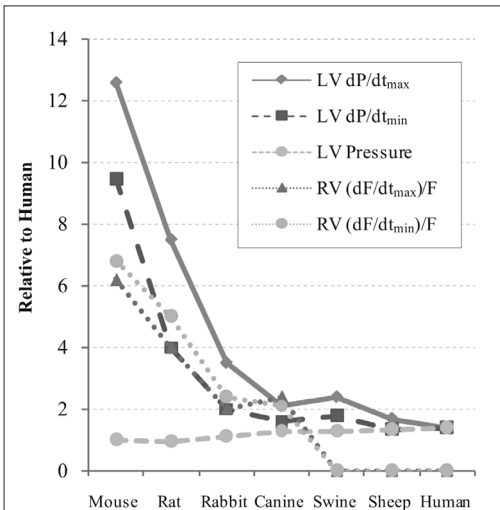


Рисунок. Кинетика сокращения и релаксации сердца в условиях *in vivo* и *ex vivo* (по N. Milani-Nejad, P. M. L. Jansen, 2013) [21]

Примечание. Нет данных *ex vivo* для правого желудочка свиней и овец; $LV dP/dt_{max}$: максимальная скорость увеличения давления в левом желудочке; $LV dP/dt_{min}$: максимальная скорость снижения давления в левом желудочке; $RV (dF/dt_{max})/F$: соотношение максимальной скорости сокращения и силы, развиваемой трабекулами правого желудочка; $RV (dF/dt_{min})/F$: соотношение максимальной скорости расслабления и силы, развиваемой трабекулами правого желудочка.

Основными параметрами, необходимыми для оценки безопасности потенциальных ЛС в отношении сердечно-сосудистой системы, являются частота сердечных сокращений, артериальное давление и электрокардиографические параметры. В соответствии с руководством ICH S7A наиболее приемлемым считается использование бодрствующих животных, находящихся в физиологических условиях, что позволяет осуществлять продолжительное наблюдение за изменениями ЭКГ и артериального давления. С этой целью используются телеметрические системы наблюдения. Некоторые из них даже позволяют определить давление и скорость его изменения (dP/dt) в полости левого желудочка сердца.

Основной причиной потери ключевой роли экспериментов на наркотизированных животных стало признание влияния средств для наркоза (особенно фенobarбитала) на реполяризацию желудочков [28, 29]. Тем не менее, Tashibu и соавт. (2005 г.) продемонстрировали полезность и высокую чувствительность модели с наркотизированными животными для оценки влияния ЛС на продолжительность интервала QT [30].

Вместе с тем у исследований с применением наркотизированных животных есть свои преимущества. Адекватное анестезиологическое обеспечение (контролируемое поддержание глубины наркоза на хирургическом уровне) обеспечивает стабильность гемодинамики с очень низкой вариабельностью параметров и позволяет с высокой чувствительностью выявить эффекты тестируемых веществ [31]. Инвазивные методы дают возможность углубленного изучения влияния препарата на деятельность сердца и сосудистой системы (например, путем измерения давления в легочной артерии, объемной скорости кровотока в различных сосудах и т. д.). Пероральный путь введения препарата, недоступный у наркотизированных животных, в случае невозможности/нежелательности внутривенного введения имеет разумную альтернативу в виде внутрижелудочного введения.

В исследованиях такого рода возможно определение давления в малом круге кровообращения, конечнодиастолического и конечносистолического давления в полости левого желудочка, сократительной способности сердца, частоты сердечных сокращений, сердечного выброса и объемного кровотока в различных регионах перфузии. Тестируемые соединения могут быть классифицированы с точки зрения фармакологических эффектов на основании их положительного/отрицательного инотропного и хронотропного, аритмогенного, гипо- или гипертензивного действия [14].

Еще одной положительной стороной проведения исследований на наркотизированных животных является возможность непосредственного сопоставления содержания препарата в крови и выраженностью его фармакологического действия [32]. До недавнего времени этот подход был наиболее распространенным при изучении действия ЛС на сердечно-сосудистую систему и упоминается в руководствах по общей фармакологии как стандартный тест [33].

Иными словами, существует значительный положительный опыт проведения исследований такого типа, и накоплено большое количество ценных данных. Поэтому эксперименты на бодрствующих животных с применением телеметрических систем не могут в полной мере заменить эксперименты на наркотизированных животных, которые позволяют провести более глубокое и всестороннее изучение влияния ЛС на деятельность всего организма и сердечно-сосудистой системы в частности.

Говоря о безопасности в отношении ССС потенциального лекарственного средства, нельзя не сказать и о критериях ее оценки. В 2010 году R. Wallis сообщил в краткой форме критерии, с помощью которых можно описать положительный эффект в неклинических и клинических исследованиях и общую чувствительность оценки в условиях *in vivo*, что может увеличить точность прогноза [34]. Недавно также была четко описана чувствительность специфической сердечно-сосудистой модели

[35]. Нижний предел статистической мощности для этих исследований, описанный L. Hanson и др. (2006 г.) [36], был подтвержден и другими исследователями [37–39].

Исследования оценки фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы позволяют с высокой точностью переносить данные с животных на человека при условии использования одинаковых конечных параметров и при измерении у животных и человека далеко не только интервала QT. Поскольку в большинстве опубликованных исследований чувствительность любого исследования остается неопищенной, будет существовать элемент сомнения в отношении вопроса о переносе данных на человека и их прогностической ценности.

На этом фоне Общество фармакологической безопасности (Safety Pharmacology Society) объединило группу из более 50 экспертов, чтобы обсудить наилучшую практику оценки фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы при проведении отдельных исследований и исследований в рамках оценки токсичности.

Ключевым вопросом, рассмотренным этой первой рабочей группой, был вопрос: «Что необходимо сделать, чтобы обратить внимание на эти этапы оценки фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы?» В 2012 году были опубликованы рекомендации этой группы [16].

Конкретные рекомендации рабочей группы по наилучшей практике включали следующее:

- а) экспериментальный протокол необходимо обосновать путем использования контрольных веществ в этой конкретной лаборатории, и включить опубликованные описания влияния этих соединений в сходных исследованиях, проведенных в других лабораториях (если такие описания существуют);
- б) периодически (возможно, ежегодно) и при каждом значительном изменении протокола необходимо подтвердить адекватность протокола путем повторной оценки соответствующих контрольных веществ;

в) необходимо провести оценку статистической мощности исследования, чтобы определить, можно ли определить величину эффектов с такой достоверностью, которая бы позволила надежно и убедительно проверить гипотезу;

г) включение в сообщение об исследовании информации о гипотезе, которая проверяется, описание дизайна эксперимента и его способность проверить гипотезу с точки зрения чувствительности, плане предварительной обработки и анализа данных, оценке согласованности проведенного исследования с поставленной целью в отношении чувствительности позволит провести корректное сравнение разных исследований.

В литературе есть несколько сообщений, которые подтверждают целесообразность этих предложения. H. Sasaki с соавт. (2005 г.) описали межлабораторную вариабельность параметров ЭКГ и гемодинамики, измеренных у ненаркотизированных собак и приматов в разных лабораториях Японии [40]. Эти исследователи идентифицировали несколько факторов, которые повлияли на расхождение данных в исследовании или оказывали существенное влияние на исходные параметры, включая такие различия, как поставщики животных.

Относительно небольшие изменения дизайна исследования и внешних условий могут оказаться более значимыми, чем ожидалось, и может потребоваться более частое проведение оценки вариаций, статистической мощности и эффекта контрольных веществ, чем это делается в обычной практике [41]. В совокупности такие данные позволяют охарактеризовать тестовую систему, а вместе с накопленной базой данных для контроля и препарата сравнения (включая данные о запатентованном исследуемом соединении при их наличии) формируют основу для последующего изучения исследуемого соединения.

Некоторые примеры способов достижения повышения чувствительности исследования приведены в таблице 4.

Еще одно обстоятельство обуславливает значимость доклинической оценки общей фармакологической безопасности

*Повышение чувствительности и точности оценки данных
(по D. J. Leishman et al., 2012 г. [16])*

Что вы можете сделать, если ваша модель адекватно не работает? Советы для улучшения работы:

Акклиматизация животных и использование адекватной технологии

- Проанализировать, является ли адекватным исследование на животных, ограниченных в движении или наркотизированных, или лучше использовать внешнюю телеметрию.
- Обеспечить достаточное привыкание экспериментальных животных к методике.
- Проанализировать, является ли полностью имплантируемая телеметрия наилучшим методом для соответствия целям исследования.

Окружающая среда

- Минимизировать вмешательства, которые тревожат животных.
- Рассмотреть возможность парного содержания животных.
- Обеспечить наличие звуконепроницаемых дверей или двойных дверей, чтобы погасить внешний шум.
- Рассмотреть возможность создания фонового звука (радио или белый шум, то есть шум с равномерно распределенным спектром) в помещениях, в которых содержатся животные, чтобы действия сотрудников вивария не мешали измерению параметров сердечно-сосудистой системы.
- Старайтесь экономно использовать время в каждом исследовании, чтобы минимизировать вмешательство.

Стратегии анализа данных

- Определите, сколько нужно собрать данных.
- Определите, сколько необходимо данных для анализа.
- Выберите адекватные методы статистического анализа.
- В основном, чем больше данных объединяются в блоки с более продолжительным периодом, тем выше чувствительность, если это позволяет продолжительность лечения и действий.
- Тщательно проанализируйте метод, используемый для коррекции интервала QT по изменению частоты сердечных сокращений. Желательно проводить индивидуальную коррекцию [39].

Использование моделей для оценки фармакокинетики/фармакодинамики

- По возможности проводите моделирование, чтобы связать эффект с системной нагрузкой при использовании прямых или косвенных моделей и чтобы, возможно, больше узнать о механизме и перенесении данных (например, взятие проб плазмы крови в разные дни у одних и тех же животных).
- Знать признаки гистерезиса.
- Понимать возможную степень сигнала, понимая максимальный эффект (Emax), который можно определить.
- Как и при всех других вмешательствах, убедиться в том, что взятие проб плазмы крови не создает значительных помех сбору данных о сердечно-сосудистой системе или не влияет на общие цели исследования.

Виды или породы животных

- Используйте виды животных, для которых фармакология и доступные методы лучше всего позволяют проверить основную гипотезу.
- Необходимо обеспечить научное обоснование выбора вида животных на основе проверяемой гипотезы.

потенциальных лекарственных средств в отношении сердечно-сосудистой системы. В 2012 году Конгресс США сформулировал понятие «breakthrough therapy» («революционная терапия»), чтобы сконцентрировать больше ресурсов FDA на исследовании лекарств, для которых уже имеются клинические доказательства существенного улучшения (по одному и более клинически значимому параметру) по сравнению с существующими способами лечения [42]. Новые препараты могут получить одобрение от FDA на основании результатов испытаний, устанавливающих их безопасность в процессе адекватных и хорошо контролируемых исследований, демонстрирующих «веские доказательства» эффективности [43].

Невозможно составить полное предписание в отношении того, как нужно проводить все исследования по изучению фармакологической безопасности для сердечно-сосудистой системы. Однако наилучшее качество и строгость данных могут быть достигнуты, когда цели каждого исследования по изучению фармакологической безопасности

для сердечно-сосудистой системы четко определены перед проведением исследования с тем, чтобы можно было ретроспективно оценить, насколько хорошо в исследовании поддерживается эта цель. При такой оценке следует учитывать наилучшую практику, поэтому следует активно поддерживать включение этой информации или этого контекста в отчеты. Только с включением такого контекста исследования потребитель (например, клиницисты, представители контролирующих органов и спонсоры) сможет оценить ценность исследования и использовать полученные данные для своих целей.

Таким образом, общую фармакологическую безопасность можно рассматривать как актуальное и весьма перспективное направление фармакологии, которое необходимо развивать в Украине с целью минимизации риска развития потенциально опасных побочных эффектов и оптимизации доклинических испытаний новых лекарственных средств.

1. Roy M-L. HERG, a primary human ventricular target of the non-sedating antihistamine terfenadine / M-L. Roy, R. Dumanine, A. M. Brown // *Circulation*. – 1996. – V. 94. – P. 817–823.
2. Rosen M. R. Of oocytes and runny noses / M. R. Rosen // *Circulation*. – 1996. – V. 94. – P. 607–609.
3. Comparison of the QT interval response during sinus and paced rhythm in conscious and anesthetized beagle dogs / A. Ollerstam, S. A. Visser, G. Duker [et al.] // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. – 2007. – V. 56. – P. 131–144.
4. Bass A. S. Origins, practices and future of safety pharmacology / A. S. Bass, L. Kinter, P. Williams // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. – 2004. – V. 49. – P. 145–151.
5. Pugsley M. K. Principles of Safety Pharmacology / M. K. Pugsley, S. Authier, M. J. Curtis // *British Journal of Pharmacology*. – 2008. – V. 154. – P. 1382–1399.
6. ICH S7A Note for guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals // Federal Register. – 2001. – V. 66, № 135. – P. 36791–36792. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf.
7. ICH S7B The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals // Federal Register. – 2006. – V. 70, № 202. – P. 61133–61134. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7B/Step4/S7B_Guideline.pdf.
8. ICH E14 Clinical Evaluation of QT/QTc Interval Prolongation and Proarrhythmic Potential for Non-Antiarrhythmic Drugs / Federal Register. – 2005. – V. 70, № 202. – P. 61134–61135. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073153.pdf>.
9. Japanese Guidelines for Nonclinical Studies of Drugs Manual. – Tokyo : Yakuji Nippo Limited, 1995. – 174 p.
10. Garber K. The second wave in kinase cancer drugs / K. Garber // *Nature Biotechnol.* – 2006. – V. 24. – P. 127–130.
11. Sanguinetti M. C. Predicting drug-hERG channel interactions that cause acquired long QT syndrome / M. C. Sanguinetti, J. S. Mitcheson // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2005. – V. 26. – P. 119–124.
12. Sugiyama A. Sensitive and reliable proarrhythmia *in vivo* animal models for predicting drug-induced torsades de pointes in patients with remodelled hearts / A. Sugiyama // *British Journal of Pharmacology*. – 2008. – V. 154. – P. 1528–1537.

13. Cardiovascular function in nonclinical drug safety assessment: current issues and opportunities / R. D. Sarazan, S. Mittelstadt, B. Guth [et al.] // *International Journal of Toxicology*. – 2011. – V. 30. – P. 272–286.
14. Guth B. D. Preclinical Cardiovascular Risk Assessment in Modern Drug Development / B. D. Guth // *Toxicol. Sci.* – 2007. – V. 97, № 1. – P. 4–20.
15. Stevens J. L. The future of drug safety testing: Expanding the view and narrowing the focus / J. L. Stevens, T. K. Baker // *Drug Discovery Today*. – 2009. – V. 14. – P. 162–167.
16. Best practice in the conduct of key nonclinical cardiovascular assessments in drug development: Current recommendations from the Safety Pharmacology Society / D. J. Leishman, T. W. Beck, N. Dybdal [et al.] // *J. Pharm. Toxicol. Methods*. – 2012. – V. 65. – P. 93–101.
17. Cardiotoxicity associated with targeting kinase pathways in cancer / H. R. Mellor, A. R. Bell, J.-P. Valentin, R. R. A. Roberts // *Toxicological Sciences*. – 2011. – V. 120. – P. 14–32.
18. Meijler F. L. Archetype, adaptation and the mammalian heart / F. L. Meijler, T. D. Meijler // *Neth Heart J*. – 2011. – V. 19. – P. 142–148.
19. Ostergaard G. Physiological, Hematological, and Clinical Chemistry Parameters, Including Conversion Factors / G. Ostergaard, H. Hansen, J. Ottesen // *In Handbook of Laboratory Animal Science* [Eds. J. Hau, S. J. Schapiro], Volume I: Essential Principles and Practices. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2010. – P. 667–707.
20. Electrocardiography of the Asian elephant (*Elephas maximus*) / S. L. Bartlett, N. Abou-Madi, M. S. Kraus, [et al.] // *J. Zoo Wildlife Med.* – 2009. – V. 40, № 3. – P. 466–473.
21. Milani-Nejad N. Small and large animal models in cardiac contraction research: Advantages and disadvantages / N. Milani-Nejad, P. M. L. Janssen // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2013. – V. 131, № 3. – P. 235–239. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.10.007>.
22. Prothero J. Heart weight as a function of body weight in mammals / J. Prothero // *Growth*. – 1979. – V. 43, № 3. – P. 139–150.
23. From mouse to whale: a universal scaling relation for the PR interval of the electrocardiogram of mammals / S. F. Noujaim, E. Lucca, V. Munoz [et al.] // *Circulation*. – 2004. – V. 110. – P. 2802–2808.
24. Methods in Cardiovascular Safety Pharmacology / P. Champeroux, B. D. Guth, M. Markert, G. Rast // *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays* [eds. Vogel H. G. [et al.]]. – Berlin: Springer-Verlag, 2013. – P. 73–97.
25. Development of a surgical approach for telemetering guinea pigs as a model for screening QT interval effects / G. Provan, A. Stanton, A. Sutton [et al.] // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. – 2005. – V. 52. – P. 223–228.
26. QT and RR intervals in conscious and anesthetized guinea pigs with highly varying RR intervals and given QTc-lengthening test articles / R. L. Hamlin, A. Kijawornrat, B. W. Keene, D. M. Hamlin // *Toxicol. Sci.* – 2003. – V. 76. – P. 437–442.
27. Cardiovascular parameters in anaesthetized guinea pigs: a safety pharmacology screening model / D. Hauser, M. Stade, A. Schmidt, G. Hanauer // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. – 2005. – V. 52. – P. 106–114.
28. Weissenburger J. Transmural heterogeneity of ventricular repolarization under baseline and long QT conditions in the canine heart *in vivo*: torsades de pointes develops with halothane but not pentobarbital anesthesia / J. Weissenburger, V. V. Nesterenko, C. Antzelevitch // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2000. – V. 11. – P. 290–304.
29. Inhibition of cardiac potassium currents by pentobarbital / A. Bachmann, S. Mueller, K. Kopp [et al.] // *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* – 2002. – V. 365. – P. 29–37.
30. QT PRODACT: *in vivo* QT assay in anesthetized dog for detecting the potential for QT interval prolongation by human pharmaceuticals / H. Tashibu, H. Myazaki, K. Aoki [et al.] // *J. Pharm. Sci.* – 2005. – V. 99. – P. 473–486.
31. Modeling and Simulation of Preclinical Cardiac Safety: Towards an Integrative Framework / A. Soubret, G. Helmlinger, B. Dumotier [et al.] // *Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2009. – V. 24, № 1. – P. 76–90.
32. Effect of commonly used vehicles on gastrointestinal, renal, and liver function in rats / S. Pestel, H. J. Martin, G. M. Maier, B. Guth // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. – 2006. – V. 54. – P. 200–214.
33. Basic & Clinical Pharmacology / ed. B. G. Katzung, S. B. Masters, A. J. Trevor. – [12th ed.] // USA: McGraw Hill Professional, 2011. – 1248 p.
34. Wallis R. Integrated risk assessment and predictive value to humans of nonclinical repolarization assays / R. Wallis // *British Journal of Pharmacology*. – 2010. – V. 159. – P. 115–121.
35. Cardiovascular safety assessments / A. Sivarajah, S. Collins, M. Sutton [et al.] // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2010. – V. 62. – P. 12–19.
36. ILSI-HESI cardiovascular safety subcommittee initiative: Evaluation of three non-clinical models of QT prolongation / L. Hanson, A. Bass, G. Gintant [et al.] // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2006. – V. 54. – P. 116–129.
37. Statistical power analysis for hemodynamic cardiovascular safety pharmacology studies in beagle dogs / A. Chiang, W. Smith, B. Main, R. Sarazan // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2004. – V. 50. – P. 121–130.

38. ILSI-HESI cardiovascular safety subcommittee dataset: An analysis of the statistical properties of QT interval and rate-corrected QT interval (QTc) / A. Chiang, A. Bass, M. Cooper [et al.] // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. – 2007. – V. 56. – P. 95–102.
39. Calculation of QT shift in non clinical safety pharmacology studies / P. Chamepeoux, E. Martel, J. S. L. Fowler [et al.] // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. – 2009. – V. 59. – P. 73–85.
40. QT PRODACT: Interfacility variability in electrocardiographic and hemodynamic parameters in conscious dogs and monkeys / H. Sasaki, N. Shimizu, H. Suganami, K. Yamamoto // Journal of Pharmacological Sciences. – 2005. – V. 99. – P. 513–522.
41. Optimizing the experimental environment for dog telemetry studies / A. Klumpp, T. Trautmann, M. Markert, B. Guth // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. – 2006. – V. 54. – P. 141–149.
42. Food and Drug Administration Safety and Innovation Act // Public Law 112–144. — JULY 9, 2012 Stat. 993 // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/PLAW-112publ144/content-detail.html>.
43. Kesselheim A. S. FDA Designations for Therapeutics and Their Impact on Drug Development and Regulatory Review Outcomes / A. S. Kesselheim, J. J. Darrow // Clinical Pharmacology & Therapeutics. – 2015. – V. 97, № 1. – P. 29–36.

А. С. Хромов

Общая фармакологическая безопасность и сердечно-сосудистая система

Общая фармакологическая безопасность (ОФБ) или Safety Pharmacology – это молодая, быстро развивающаяся дисциплина. Используя методы фармакологии в нормативных управляемых процессах, она позволяет получать данные для оценки профиля безопасности потенциального лекарственного средства. Целью ОФБ является выявление на стадии доклинического изучения возможных побочных эффектов лекарственного средства. При этом прогнозирование таких эффектов строится на основании результатов оценки соотношения фармакодинамических и фармакокинетических характеристик исследуемого вещества. В отличие от классической фармакологии, исследование общей фармакологической безопасности позволяет предсказать риск развития серьезных (тяжелых) побочных реакций, включая смертельный исход, а также включают соответствующие нормативные требования для проведения таких исследований, что придает ОФБ уникальный характер.

Ключевыми вопросами для ОФБ являются обнаружение возможного неблагоприятного эффекта лекарственного средства, определение границ безопасности и, наконец, обоснование безопасности клинических испытаний. Иными словами, ОФБ – это дисциплина, которая позволяет предсказать, будет ли безопасным препарат (в самом широком смысле этого слова) при его введении животному или человеку.

В этой обзорной статье представлен краткий исторический очерк становления и развития общей фармакологической безопасности, приводятся основные директивные документы и руководства по оценке ОФБ.

Показаны особенности функционирования сердечно-сосудистой системы мелких и крупных животных по сравнению с человеком.

Обсуждаются преимущества и недостатки проведения исследований на бодрствующих и наркотизированных животных.

Подчеркивается возрастание значимости оценки ОФБ в результате появления законодательно оформленного понятия «breakthrough therapy» («революционная терапия»). Новые препараты могут получить одобрение FDA только на основании результатов испытаний, устанавливающих их безопасность в процессе адекватных и хорошо контролируемых исследований.

Делается вывод об актуальности и перспективности развития исследований по оценке общей фармакологической безопасности в Украине. Целью таких работ должны быть минимизация риска развития потенциально опасных побочных эффектов и оптимизация доклинических испытаний новых лекарственных средств.

Ключевые слова: общая фармакологическая безопасность, лекарственное средство, сердечно-сосудистая система

О. С. Хромов

Загальна фармакологічна безпека та серцево-судинна система

Загальна фармакологічна безпека (ЗФБ) або Safety Pharmacology – це молода дисципліна, що швидко розвивається. Використовуючи методи фармакології в нормативних керуваннях процесах, вона дозволяє отримувати дані для оцінки профілю безпеки потенційного лікарського засобу. Метою ЗФБ є виявлення на стадії доклінічного вивчення можливих побічних ефектів лікарського засобу. При цьому прогнозування таких ефектівбудеться на підставі результатів оцінки співвідношення фармакодинамічних і фармакокінетичних характеристик досліджуваної речовини. На відміну

від класичної фармакології, дослідження загальної фармакологічної безпеки дозволяють прогнозувати ризик розвитку серйозних (тяжких) побічних реакцій, включаючи смертельний результат, а також включають відповідні нормативні вимоги для проведення таких досліджень, що надає ЗФБ унікальний характер.

Ключовими питаннями для ЗФБ є виявлення можливого несприятливого ефекту лікарського засобу, визначення меж безпеки і, нарешті, обґрунтування безпеки клінічних випробувань. Іншими словами, ЗФБ – це дисципліна, яка дозволяє передбачити, чи буде безпечним препарат (у найширшому сенсі цього слова) при його введенні тварині або людині.

У цій оглядовій статті надається короткий історичний нарис становлення та розвитку загальної фармакологічної безпеки, наводяться основні директивні документи й керівні положення з оцінки ЗФБ.

Описуються особливості функціонування серцево-судинної системи дрібних і великих тварин порівняно з людиною.

Обговорюються переваги та недоліки проведення досліджень на ненаркотизованих і наркотизованих тваринах.

Підкреслюється зростання значущості оцінки ЗФБ у результаті появи законодавчо оформленого поняття «breakthrough therapy» («революційна терапія»). Нові препарати можуть отримати схвалення FDA тільки на підставі результатів випробувань, що встановлюють їхню безпеку в процесі адекватних і добре контрольованих досліджень.

Робиться висновок про актуальність і перспективність розвитку досліджень з оцінки загальної фармакологічної безпеки в Україні. Метою таких робіт має бути мінімізація ризику розвитку потенційно небезпечних побічних ефектів і оптимізація доклінічних випробувань нових лікарських засобів.

Ключові слова: загальна фармакологічна безпека, лікарський засіб, серцево-судинна система

A. S. Khromov

Safety pharmacology and cardiovascular system

Safety Pharmacology (SF) is a young, rapidly growing discipline. Using pharmacological methods in the regulatory-driven processes, it provides data to assess the safety profile of a potential drug. SF is aimed to identify the potential side effects of drugs at the stage of preclinical studying. A prediction of such effects is based on the pharmacodynamics/pharmacokinetics ratio assessment for the test substance. In contrast to classic pharmacology, safety pharmacology allows predicting risk of serious (severe) adverse effects, including death, as well as includes appropriate regulatory requirements for such research, and this gives SF a unique character.

SF has the key issues such as identification of the potential adverse effects of the drugs, detection of the safety margins, and finally, justification of safety of the clinical trials. In other words, SF is a discipline that permits to predict whether the drug is safe (in the broadest sense of the word) when administered to an animal or human.

The review article gives a brief history of the formation and development of safety pharmacology, cites the main directive documents and guides on SF assessment.

The features of the cardiovascular system functioning in small and large animals compared to human are described.

The advantages and disadvantages of conducting studies on conscious and anesthetized animals are discussed.

An increasing significance of SF assessment as a result of legislative registration of the concept «breakthrough therapy» is emphasized. New drugs can get approval from the FDA only on the basis of the trial establishing a safety of new drug in the adequate and well-controlled studies.

The article concludes on the relevance and prospects of the research for safety pharmacology assessment in Ukraine. The aim of such research should be minimization of risk for potentially hazardous side effects and optimization of preclinical studies for new drugs.

Key words: safety pharmacology, medicine, cardiovascular system

Надійшла: 14 березня 2016 р.

Контактна особа: Хромов Олександр Станіславович, головний науковий співробітник, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 02 88. Електронна пошта: askhromov@ukr.net