



PHARMAROUND
INTERAKTIVNÍ PLATFORMA

Preklinická fáze vývoje léčiv

Brno / místo konání
15.2.2012

MUDr. Petra Jandová, SÚKL



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



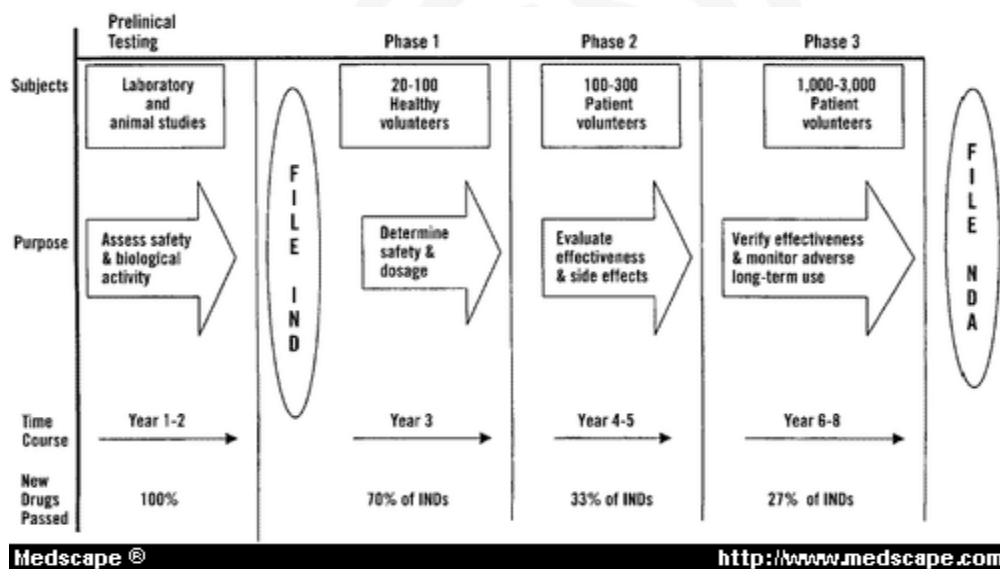
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Preklinické testování

stadium vývoje nového léku během kterého jsou shromážděna základní data o bezpečnosti a farmakologii před prvním podáním člověku



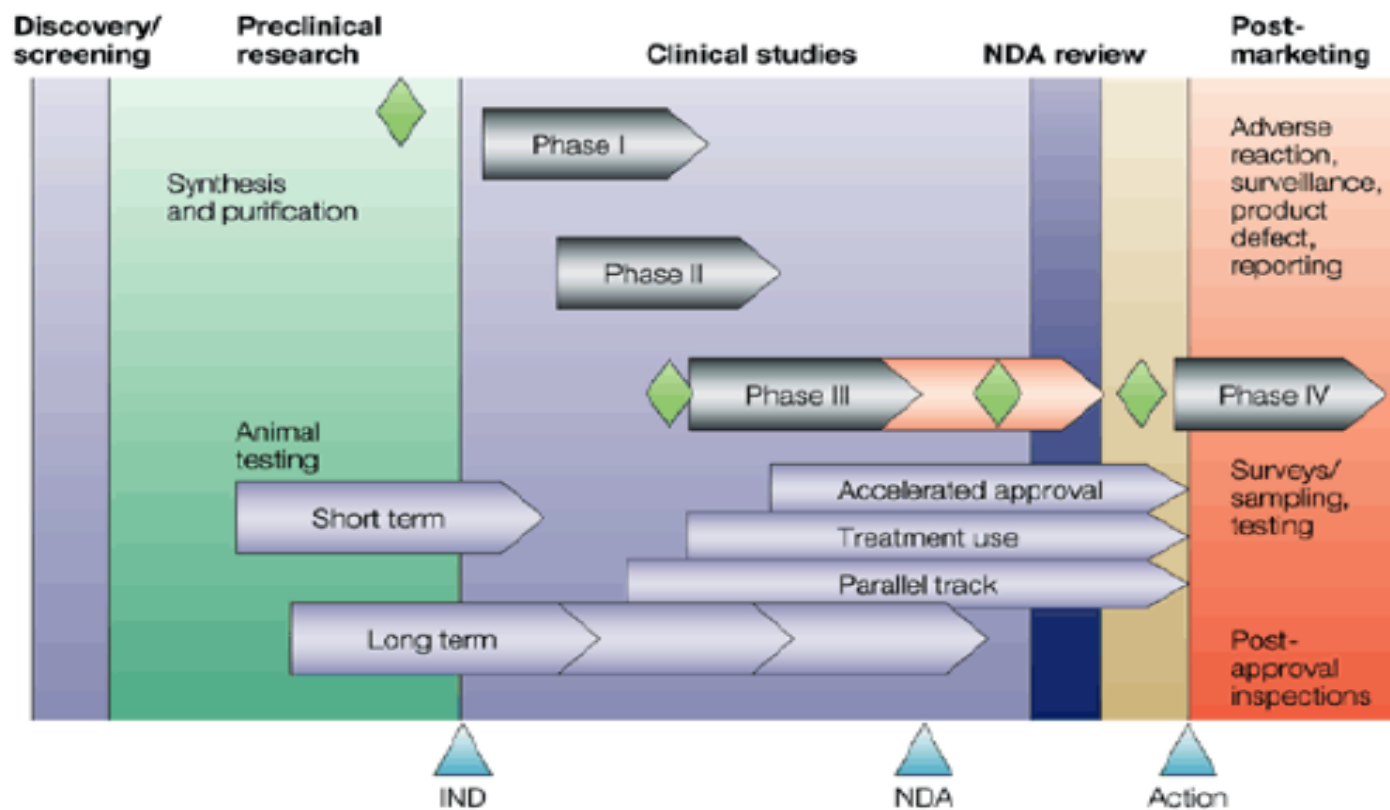
IND= Investigational New Drug; NDA: New Drug Application

Jsou preklinické testy nutné?

- Testy poskytují informace potřebné
- K dalším fázím preklinického testování
- Ke klinickým fázím testování
- Pro registraci léčiva



Návaznost fází výzkumu



Co je cílem testů?

- Důkaz o mechanismu účinku a účinnosti u zvířat
- Selektce optimálního zvířecího modelu
- Výběr počáteční dávky, stanovení vhodného dávkovacího režimu a eskalace dávky
- Výběr biologických markerů
- Opodstatnění lékových kombinací
- Stanovení PD a PK
- Detekce toxicity na úrovni organismu, orgánu či orgánových systémů, vliv na reprodukci, genotoxicita
- Upozornění na oblasti možných nežádoucích účinků

Screening molekul, databáze dat (1)

- V úvodních fázích výzkumu je klíčové odhadnout chování molekuly a její potenciální toxicitu
- Použití výzkumných databází a literatury

United States National Library of Medicine
TOXNET
Toxicology Data Network

SIS Home | About Us | Site Map & Search | Contact Us
▶ Env. Health & Toxicology ▶ TOXNET

TOXNET - Databases on toxicology, hazardous chemicals, environmental health, and toxic releases.

Select Database

- ChemIDplus
- HSDB
- TOXLINE
- CCRIS
- DART
- GENETOX
- IRIS
- ITER
- LactMed
- Multi-Database
- TRI
- Haz-Map
- Household Products
- TOXMAP

Additional Resource

- CPDB
- CTD

Search All Databases

paracetamol Search Clear Help
(e.g. asthma air pollution, ibuprofen fever, vinyl chloride)

References from Biomedical Literature

TOXLINE	Toxicology Literature Online	13214
DART	Developmental Toxicology Literature	438

Chemical, Toxicological, and Environmental Health Data

ChemIDplus	Chemical Identification/Dictionary	1
HSDB	Hazardous Substances Data Bank	390
CCRIS	Chemical Carcinogenesis Information	2
CPDB	Carcinogenic Potency Database	1
GENETOX	Genetic Toxicology Data	1
CTD	Comparative Toxicogenomics Database	104
IRIS	Integrated Risk Information	0
ITER	International Toxicity Estimates for Risk	0

Env. Health & Toxicology

Screening molekul, databáze dat (2)

- Porovnávání se strukturálně podobnými látkami se známými vlastnostmi
- Screening probíhá pomocí počítačových systémů
- DEREK – Deductive Estimation Risk from Existing Knowledge
- Multi-CASE – Multiple Computer Automated Structure Evaluation
- TOPKAT – TOxicity Prediction by Computer Assisted Technology
- další

In vitro testy

- Široce používané pro úvodní fáze preklinického testování
- Nahrazují částečně či úplně i některé testy na zvířatech
- Použití tkání a buněk
- Studium PD a PK, toxikokinetiky, genotoxicity, karcinogenního potenciálu, lokální tolerance
- Musí být validované ECVAM

Validované testy in vitro – příklad (1)

Genotoxicita – In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test

- Detekuje chemické látky, které vyvolávají zlomy v chromozomech (klastogenní) nebo změny v počtech chromozomů v buňkách (aneugenní), u kterých proběhlo buněčné dělení v průběhu či po expozici látky
- Izolované fragmenty jsou obsažené v sekundárních jádrech, která jsou obvykle mnohem menší než hlavní jádro a jsou snadno odlišitelná
- Test detekuje jadérka v cytoplazmě buněk v interfázi a zároveň ukazuje mechanismus chromozomálního poškození a utvoření mikrojader
- Zobrazení pomocí fluorescence (FISH)

Validované testy in vitro – příklad (2)

- Oční dráždivost – Isolated Chicken Eye (ICE) test method
- Částečně nahrazuje in vivo test oční dráždivosti u králíků
- Testovaná látka je aplikována na rohovku alespoň 3 očí, v pravidelných intervalech je sledována reakce rohovky až do 4 hodin po aplikaci
- Posuzuje se otok rohovky, její zakalení, retence fluoresceinu, což svědčí o sklonu k dráždivosti očí
- Dle nálezu se látka klasifikuje od nedráždivé po velmi dráždivou

In vivo – základní sada testů

- Akutní toxicita (jednorázové podání)
- Subakutní toxicita (opakované podání - do 2 týdnů)
- Subchronická toxicita (opakované podání - 1 až 3 měsíce)
- Chronická toxicita (opakované podání - 3 až 24 měsíce)
- Toxikokinetika
- Bezpečnostní farmakologie

Akutní, subchronická a chronická toxicita (1)

- Cesta podání by měla být stejná jako u lidí
- Dávka podávaná u zvířat - v závislosti na předpokládané dávce podání pro člověka
- Dávka do 1000 mg/kg/den je-li to alespoň 10násobek lidské dávky
- Pokud je klinická dávka nad 1g, tak do 10násobku lidské dávky nebo do 2000 mg/kg/den – dle toho, co je nižší

Akutní, subchronická a chronická toxicita (2)

- Délka podání u zvířat - v závislosti na předpokládané délce léčby u člověka
- Pro registraci přípravku jsou nutné následující délky studií opakovaného podání:

Délka léčby u člověka	Hlodavci	Jiný druh
Do 2 týdnů	1 měsíc	1 měsíc
2 týdny až měsíc	3 měsíce	3 měsíce
Měsíc až 3 měsíce	6 měsíců	6 měsíců
Déle než 3 měsíce	6 měsíců	9 měsíců (v EU stačí 6)

In vivo – základní sada testů

- Akutní toxicita (jednorázové podání)
- Subakutní toxicita (opakované podání - do 2 týdnů)
- Subchronická toxicita (opakované podání - 1 až 3 měsíce)
- Chronická toxicita (opakované podání - 3 až 24 měsíce)
- Toxikokinetika
- Bezpečnostní farmakologie

Bezpečnostní farmakologie

- Popis působení na orgánové systémy v rámci a nad rámec terapeutického rozmezí
- Odhad možných nežádoucích účinků u člověka
- Popis mechanismu nežádoucích účinků
- Zaměřené hlavně na kardiovaskulární systém, centrální nervovou soustavu, dýchací soustavu

Specifické toxikologické testy

Na základě výsledků předcházejících studií nebo typu léčiva mohou být požadovány další specifické testy:

- Karcinogenita
- Genotoxicita
- Reprodukční a vývojová toxicita
- Lokální toxicita
- Fototoxicita
- Imunotoxicita



Karcinogenita

- 1 dlouhodobá (2 roky) studie na hlodavcích
+
- další dlouhodobá studie na hlodavcích
nebo
- Krátkodobý nebo střednědobý model na hlodavcích
 - transgenní model (inaktivace tu-su genu p53+/-; aktivace protoonkogenu Tg.rasH2 nebo Tg.AC)
 - neonatální model (expozice od narození do 3 týdnů věku)

Genotoxicita

Genotoxicita – 3 standardní testy:

- Test genetických mutací u bakterií – Ames test (Salmonella typhimurium, Escherichia Coli)
- In vitro cytogenetický test poškození chromozomů na savčích buňkách nebo in vitro test na buňkách myšího lymfomu
- In vivo test poškození chromozomů na krvinečných buňkách hlodavců (ekvivalent testu mikrojadérek)

Reprodukční a vývojová toxicita

- Testy reprodukce u obou pohlaví
- Hormonální poruchy, poškození pohlavních orgánů, detekce potratů, poruchy implantace zárodku u potkanů
- Embryonální a fetální toxicita
- Detekce malformací plodu, růstové retardace, poruch vývoje a funkce orgánů u potkanů a králíků
- Juvenilní toxicita
- Pouze výjimečně – na podporu pediatrických indikací, pokud existuje pochybnost o správnosti extrapolace dat z dospělých

Lokální toxicita, imunotoxicita

- Lokální toxicita – dle míst kontaktu s léčivem
 - Oční toxicita (králíci)
 - Kožní toxicita (králíci)
 - Rektální toxicita (králíci nebo psi)
 - Vaginální toxicita (potkani, králíci, psi)
- Imunotoxicita
 - Změny krevního obrazu, hladin imunoglobulinů, změny v imunitních orgánech, zvýšená incidence infekcí nebo tumorů

Co musí být hotovo před přechodem do další klinické fáze

Fáze I	Bezpečností farmakologie Akutní/subakutní toxicita Testy genotoxicity Testy reprodukční toxicity Lokální tolerance Farmakokinetika
Fáze II/III	Kompletní testy genotoxicity Kompletní testy reprodukční toxicity (samci i samice) Kompletní testy opakovaného podávání Kompletní farmakokinetika
Fáze III	<u>Léky pro chronické použití:</u> Chronická toxicita Karcinogenicita Studie speciální toxicity

Základní doporučení

- Dokumenty ICH
 - ICH S 1-9 a ICH M 3
 - Obecné principy preklinického testování
- Doporučené postupy Evropské lékové agentury
 - Konkrétní požadavky na testování v rámci výzkumné či registrační fáze
 - Specifické dle typu přípravku
 - Doporučení k problematice pomocných látek a nečistot
 - Požadavky v oblasti dopadu na životní prostředí

Příklad – Cellcept, p.o. a i.v. aplikace

- Akutní, subchronická a chronická toxicita p.o., i.v. a s.c.
- Bezpečnostní farmakologie – zaměření na krevetvornou a lymfatickou tkáň (myši, potkani, psi, opice)
- Genotoxicita, karcinogenita – zaměření na krevetvornou, lymfatickou tkáň a trávicí trakt (myši)
- Reprodukční a vývojová toxicita (potkani, králíci)
- Lokální toxicita pro parenterální podání

Zdroj: EPAR Cellcept, EMA 2004

Pravidlo 3R

Reduction

Redukce počtu testů a počtu pokusných zvířat

Spojování do větších studií s vyšší výtěžností dat

Replacement

Vhodný výběr zvířecího modelu dle citlivosti

Omezení studií na zárodcích a mláďatech

Nahrazení zvířecích studií in vitro metodami

Refinement

Odklon od testování letálních dávek

Kratší expozice zvířat, akutní toxicita v rámci delších studií

Limitace testů

Extrapolace toxicity ze zvířat na člověka není jednoduše aplikovatelná:

- Mezi druhové rozdíly v anatomii, fyziologii, genetice a metabolismu
- Vzácné vedlejší efekty jsou zřídka detekovány
- U biologických přípravků je možnost použití zvířecích modelů omezená



PHARMAROUND
INTERAKTIVNÍ PLATFORMA

Děkuji za pozornost

Další informace a dokumentaci najdete na
www.pharmaround.cz

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ