

Наука убеждать

Многоступенчатая система доклинических и клинических исследований фармацевтических препаратов перед их выходом на рынок окончательно сформировалась только к концу XX века: требования к безопасности и эффективности вырабатывались в том числе по итогам трагических инцидентов, связанных с применением и проверками препаратов. Review рассказывает, как создаются лекарства и на какие вопросы не всегда возможно ответить в ходе клинических исследований.

— история вопроса —

20 мая — Международный день клинических исследований: в этот день в 1747 году шотландский врач Джеймс Линд на борту корабля «Солсбери» начал сравнительное исследование употребления шести продуктов среди 12 больных цингой моряков. Пациентов с одними и теми же симптомами разместили в одной части корабля, их рацион, кроме исследуемого продукта (сидр, уксус, морская вода, разбавленная серная кислота, специи, цитрусовые), был одинаковым. Спустя шесть дней наибольшую эффективность показали цитрусовые: один моряк полностью излечился, состояние второго заметно улучшилось. Международный день клинических исследований отмечается с 2005 года по предложению некоммерческой организации European Clinical Research Infrastructures Network.

«Если говорить о том, как человечество подошло к необходимости в обязательном порядке до выпуска на рынок проверять и доказывать безопасность и эффективность будущих препаратов, то необходимо вспомнить сульфаниламидную трагедию в США, — рассказывает исполнительный директор Ассоциации организаций по клиническим исследованиям Светлана Завидова. — В 1937 году этот препарат, который применялся у взрослых для лечения стрептококковой инфекции, выпустили в „детской“ — жидкой — форме, растворив диэтиленгликолем, что дало сильный токсичный эффект“. Жертвами препарата стали более 100 человек, в основном дети. Эта трагедия стала причиной появления в США в 1938 году акта о пищевых продуктах, лекарствах и косметических средствах, который закрепил за Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) право контролировать безопасность всех выводимых на рынок препаратов, а производителей обязали проводить исследования всех выводимых на рынок препаратов и передавать результаты исследований в FDA.

Крупнейшая трагедия из-за выпущенного на рынок препарата произошла в 1950–1960-е годы: в Европе, Австралии и Японии появилась препарат «Талидомида», он продавался в Европе и рекомендовался как лекарство для беременных. «На тот момент не было четких правил обязательных доклинических и клинических исследований, в том числе изучения тератогенного эффекта — возможности влияния на плод, — поясняет госпожа Завидова. — Эта трагедия тоже дала толчок для создания современной системы регулирования».

В настоящее время, чтобы выпустить лекарственный препарат на рынок, должны быть проведены лабораторные доклинические исследования на живых моделях — на клеточных культурах, а затем на животных. Этот этап позволяет определить общую токсичность будущего лекарства, репродуктивную токсичность, тератогенность, аллергенность, им-



мунотоксичность, фармакокинетику, фармакодинамику, мутагенность и канцерогенность. Далее следуют клинические исследования — уже с участием человека в качестве объекта. До регистрации препарат проходит три фазы исследований: с участием здоровых добровольцев, количество которых ограничено (оценивается в первую очередь безопасностью препарата и его влияние на человека), далее проводятся исследования с участием больных пациентов с конкретным заболеванием, на борьбу с которым направлено лекарство (принимает участие уже большее число пациентов, оценивается профиль безопасности, эффективность, подбирается дозировка). Самая масштабная дорегистрационная фаза — третья, где могут участвовать уже несколько тысяч добровольцев, ее целью является сбор статистических данных: показатели эффективности и доказательств, что препарат работает при его применении в реальной жизни именно так, как предполагается. Впоследствии для препарата формируется регистрационное досье, куда входят данные доклинических и клинических исследований.

Проблемы и будущее клинических исследований

В середине 1990-х годов Организация экономического сотрудничества (OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development) начала распространять нормы надлежащей лабораторной практики для доклинических исследований — GLP (Good Laboratory Practice). Они регламентируют стандарты планирования и проведения исследований токсичности продукции и предоставления надлежащей документации — изначально аналогичные акты также появились

в США в рамках исследований бытовой химии, агрохимической продукции, в 1979 году, например, отдельная глава о GLP была включена в акт FDA. А в 1996 году был закреплен «золотой стандарт» надлежащей клинической практики GCP (Good Clinical Practice) — международный этический и научный стандарт планирования и проведения исследований с участием человека в качестве субъекта, а также документального оформления и представления результатов исследований. Документ объединил требования ряда стран, в частности США, Японии и ряда европейских государств.

Научный журналист, медицинский блогер, врач высшей категории, токсиколог Алексей Водовозов, говоря о доклинических исследованиях, в разговоре с Review отмечает, что предсказательная химия неплохо работает вне организации, но не с организацией. «Легче обчитать ядерный взрыв, чем человека. Существует гигантское количество переменных (при разработке действующего вещества), однако мы еще человеческий организм толком не изучили до конца, поэтому сначала синтезируем огромную массу молекул, затем проводим высокопроизводительный скрининг (компьютерная технология определения биологической активности соединений и выявление соединений с наилучшими характеристиками), то есть пытаемся соединить их с мишенями, часть из них соединится, и то, что соединилось, переходит в стадию клинических исследований, но в процессе отсеивается 99,9% вариантов».

Говоря о GLP, господин Водовозов отмечает, что эти стандарты описывают, как необходимо работать с клеточными культурами и подопытными животными: «Мы должны доказывать, что действующее вещество, которое мы изобретаем, нетоксично для жи-

вых организмов, но, во-первых, мы используем пока что уровень моноклеток, а человек состоит из органов и систем, поэтому нельзя исключить, что на уровне организма препарат будет действовать по-другому». Говоря об исследованиях с лабораторными животными, он также оценивает их точность как невысокую. «Если вещество токсично для животных, то, скорее всего, оно будет токсично для человека. Поэтому если оно токсично на клетках, затем токсично для животных, мы его отсеиваем. Но если оно нетоксично на животных, это не означает, что оно будет нетоксично для человека: все животные разные — например, кролики прекрасно едят белладонну, которая содержит атропин и прочие алкалоиды, а если мы будем ее есть в таких же количествах, то впадем в кому».

БАД и другие продукты

По словам Светланы Завидовой, ближе всего к системе исследования безопасности, аналогичной подготовке препаратов для фармацевтического рынка, подошли производители медицинских изделий: они работают по стандартам Международной организации по стандартизации ISO (International Organization for Standardization): «Хотя системы, подобной фарме, пока нет нигде — она предполагает и оценку безопасности, и эффективности. Однако ни один товар, кроме лекарств, не нуждается в доказательстве эффективности». При этом, добавляет она, существуют жесткие требования к бытовой химии или агрохимической продукции, так как возможно влияние на внешнюю среду, на животных и на человека, что выясняется в ходе доклинических лабораторных исследований. Если же говорить, например, о биологически активных добавках (БАД), то «пока производитель не заявляет неких терапевтических свойств, ему не нужно предъявлять доказательства конкретного эффекта».

Многие из клинических исследований, например по йогуртам, используют в качестве маркетинга, говорит госпожа Завидова, отмечая, что нет обязательности исследовать и табачную продукцию, так как в этом должны быть заинтересованы производители. «Если же мы говорим об исследовании неких общественных институтов, то у них, как правило, не хватает средств для проведения многолетнего, масштабного исследования, которое доказывало бы воздействие сигарет с фильтром или каких-то еще способов потребления никотина, — продолжает эксперт. — Нужны многочисленные исследования, контрольная группа, должны исследоваться различия в возникновении и частота заболеваний, нужно анализировать продолжительность жизни человека. Кроме того, необходимо учитывать множество факторов: что человек курит, только ли эту продукцию, в каких условиях он живет, какой образ жизни ведет. Представить на практике такие исследования, чистый эксперимент достаточно сложно».

Валерия Мишина

«Процесс международной стандартизации небыстрый»

— мнение —

О технических и методологических сложностях в исследовании инновационных систем доставки никотина, возможных сроках появления международных стандартов исследования веществ в их аэрозоле в интервью Review рассказала заместитель директора Всероссийского научно-исследовательского института табака, махорки и табачных изделий (ВНИИТТИ) по научной работе и инновациям ЕВГЕНИЯ ГНУЧИХ.



— Какие вы используете методы для тестирования инновационных никотинсодержащих продуктов? В чем есть сложности работы с таким продуктом?

— Инновационные никотинсодержащие продукты имеют особенности, которые не позволяют их тестировать абсолютно теми же методами, которые давно применяются в табачной отрасли для обычных сигарет. Поэтому требуется разработка специальных методов определения различных веществ, и особенно это касается методов тестирования на курительной машине.

Когда Международная организация по стандартизации (International Organization for Standardization, ISO) разрабатывала метод прокуривания сигарет, путем долгих изысканий было определено, что в среднем люди при курении сигареты делают одну затяжку в минуту, то есть 58 секунд паузы и 2 секунды затяжки. Инновационные виды изделий потребляются по-другому: потребитель делает более глубокую затяжку, более интенсивно. Хотя сейчас есть мнения, что данный метод ISO, который был разработан еще в 1970-е годы, устарел и в отношении сигарет.

— Как в итоге решили тестировать инновационные системы?

— Для электронных систем доставки никотина был предложен метод тестирования на лабораторной курительной машине, который предусматривает объем затяжки 55 мл, а не 35 мл, в отличие от традиционного метода ISO. Он также предусматривает 3 секунды продолжительность затяжки, а не 2, а также прямоугольный профиль затяжки, а не колоколообразный, как у ISO. Это пока единственный метод, который утвержден в качестве международного стандарта ISO для таких изделий, это произошло в 2018 году.

В прошлом году мы проводили аналитический обзор исследований электронных систем доставки никотина, и основной сложностью оказалось то, что разные исследователи пользовались разными методами сбора аэрозоля, разными методами тестирования и обнаружения веществ: данные по этим исследованиям несопоставимы, поэтому нельзя сделать однозначные выводы. Теперь же, когда есть метод тестирования на лабораторной курительной машине и когда будут разработаны методы для определения токсичных веществ в аэрозоле, можно будет сказать, что проведение исследований этой продукции будет унифицировано, что позволит сравнивать данные разных исследований.

— Когда могут появиться эти унифицированные методы?

— В ISO обычно это занимает не менее двух лет, это достаточно серьезный срок. Сigaretами это заняло несколько десятилетий. Потому что так же разрабатывали сначала методики прокуривания, а потом определения веществ в дыме сигарет. При этом до сих пор продолжаются разработки новых методик, которые относятся уже не просто к «смоле», а к конкретным вредным веществам. И для инновационных систем, я думаю, на разработку международных стандартов уйдет пять-десять лет.

— Каким образом сейчас поводить оценку, если единых стандартов нет?

— Есть, например, методы определения никотина, пропиленгликоля, глицерина в жидкостях электронных систем доставки никотина, этот стандарт ISO уже в стадии окончательной редакции. Есть отдельные методы международной организации по изучению табака (CORESTA), которые впоследствии могут стать стандартами ISO. Есть также методы, которые разработаны компаниями-производителями и находятся в открытом доступе. И есть методы, которые мы разработали в нашем институте, например методика определения никотина, пропиленгликоля и глицерина, еще до того, как они были стандартизованы на международном уровне.

— Какие методики использует ВНИИТТИ помимо собственных?

— В том числе методы CORESTA и ISO. И там разное оборудование, разная точность методов. Идеально, когда

исследователи используют один и тот же метод, лучше всего международный стандарт, как сейчас происходит с сигаретами.

Пока мы можем говорить о том, что методики, которые мы используем, апробированы, прошли валидацию. На своем оборудовании мы можем проверить результаты, которые получили наши коллеги из других лабораторий. Поэтому наши данные, которые мы получили по инновационным системам, мы считаем заслуживающими доверия.

— Какие это данные?

— В целом мы говорим, что разные системы доставки никотина показывают разные результаты. Но в целом значения содержания вредных веществ в аэрозоле, которые мы исследовали, а это были девять веществ из приоритетного списка Всемирной организации здравоохранения, гораздо ниже, чем в дыме сигарет.

Все изделия мы тестировали на максимальной мощности, которую предусмотрел производитель для их работы. По открытым системам, которые необходимо заправлять жидкостью в открытую емкость, мы получили неоднозначные результаты, что связано с некорректной работой устройств: она была нестабильной, менялась мощность батареи, устройства перегревались во время работы. Можно сказать, что мы получили не совсем сравнимые, нестабильные результаты из-за некорректной работы устройств. Мы будем проводить дальнейшие исследования, связанные с открытыми системами.

Картриджные системы доставки никотина и системы нагревания табака показали стабильные результаты при тестировании на курительной машине: они не горели, не меняли свою мощность, что видно в балансе выхода аэрозоля.

— Расскажите о веществах, которые вы исследовали.

— Мы исследуем вещества, которые образуются в аэрозоле и могут находиться в аэрозоле при сгорании табака, если таковое есть, или при термическом распаде пропиленгликоля и глицерина, входящих в состав жидкости или которыми пропитан нагреваемый табак. ВОЗ в 2008 году выделила девять веществ с точки зрения их токсичности и содержания в табачном дыме и рекомендовала государствам контролировать и снижать их содержание: формальдегид, ацетальдегид, акroleин, два вида нитрозаминов, бензол, бензилен, 1,3-бутадии и монооксид углерода. Дополнительно мы определяем никотин, пропиленгликоль и глицерин.

— ВОЗ к 2020 году намерена представить доклад о научных исследованиях и фактических данных о новых табачных продуктах. С учетом отсутствия международных стандартов, насколько это возможно?

— Дело в том, что существует недоверие со стороны ВОЗ к данным, которые приводят производители, и даже к стандартам ISO. Поэтому ВОЗ создала собственную структуру TobReg (Исследовательская группа ВОЗ по регулированию табачных изделий), которая должна разработать собственные методики определения различных токсичных веществ в дыме табака, и, наверное, будут разрабатывать такие методики для инновационных изделий. Но пока данных по методикам нет, а ВОЗ ссылается на независимые исследования.

СПРАВКА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт табака, махорки и табачных изделий» (ФГБУН ВНИИТТИ) создано в 1914 году на базе Екатеринбургской лаборатории опытного табаководства. Проводит фундаментальные и инновационные научные исследования в области табачного производства и осуществляет научное обеспечение табачной отрасли. Целью исследований ВНИИТТИ является создание научных основ агропромышленного производства табачной продукции, обеспечивающих получение конкурентоспособных табачных изделий высокого качества и пониженной токсичности.

Делу — табак

— опыт —

Сотни ученых работают в научно-исследовательских центрах Philip Morris International (PMI), и в том числе они занимаются оценкой краткосрочных и долгосрочных рисков для здоровья потребителей никотина, сравняв аэрозоль от бездымных систем и разгадывают тайну, как растение табак создает никотин. Таким образом, компания наряду с разработкой инновационных систем доставки никотина, работающих без горения, занимается и фундаментальными исследованиями.

В создании Центра исследований и разработок PMI в Швейцарии вложила более \$120 млн (общий объем инвестиций компании в разработку, тестирование и производство инновационных систем доставки никотина олицетворяет комплексный и интегрированный подход компании к стратегической цели создания будущего без табачного дыма, объясняет главный исполнительный директор по научно-исследовательской деятельности PMI Мануэль Пайтч. «Наш Научно-исследовательский центр в Невшателе (Швейцария) занимается в первую очередь разработкой и

оценкой продукции с пониженным риском. Над этим работают свыше 430 ученых, экспертов и технических специалистов. Это специалисты широкого спектра естественных и технических наук, включая биологию, химию, физику, электронику, программирование, математику и статистику», — рассказывает он. По словам сподина Пайтча, специалисты центра развивают, в частности, такое инновационное направление, как системная токсикология, представляющая собой сочетание классической токсикологии с количественным анализом молекулярных и функциональных изменений, вызываемых токсичными веществами. Эта дисциплина позволяет оценить влияние токсичных веществ на биологические сети внутри организма, выявить, какие они могут вызвать заболевания.

Изучение аэрозоля, который является продуктом работы системы нагревания табака, является основным и обязательным этапом работы центра: именно вещества из аэрозоля попадают в организм человека и оказывают на него биологическое воздействие. В ходе токсикологической оценки специалисты центра, в частности, сравнивают аэрозоль, полученный инновационными системами доставки никотина, с сигаретным дымом. Сигаретный дым, который в мире исследуют уже много де-

сятилетий, содержит более 6 тыс. различных химических соединений, там же присутствуют твердые углеродные частицы — это результат горения. Так как системы нагревания табака и электронные испарители работают без горения, состав получаемого продукта отличается от сигаретного дыма: в их аэрозолях отсутствуют твердые углеродные частицы, значительно ниже содержание табачных специфических нитрозаминов и других токсинов и канцерогенов.

В компании составили список из 54 вредных веществ, приоритетных для анализа сигаретного дыма и аэрозолей бездымных продуктов. «Конструкция наших продуктов специально направлена на снижение их концентрации (таких веществ. — Review) до минимально возможных уровней», — отмечают в PMI. Методы научной оценки, подчеркивают в компании, основаны на практиках фармацевтической отрасли, соответствуют правилам надлежащей лабораторной и клинической практики (GLP и GCP) и рекомендациям Центра табачных продуктов Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США. Специалисты проводят клинические исследования фармакокинетики и фармакодинамики продуктов, во время которых измеряется концентрация никотина в ор-

ганизме после однократного использования бездымного продукта и продолжительность его присутствия в организме. Другие, более продолжительные клинические исследования помогают определить, как снижает уровень вредных веществ, воздействующих на организм курильщика, когда он переключается с сигарет на альтернативные продукты. Результаты обнадеживают: снижение вредного воздействия почти такое же, как при полном отказе от табака.

Помимо разработки инновационных продуктов научно-исследовательский центр PMI занимается и фундаментальными исследованиями в смежных областях биологии. Доктор химических наук руководитель исследований биомаркеров и биосенсоров PMI Николай Иванов напоминает, что в 2014 году сотрудники центра завершили работу по полной расшифровке генома табака. По его словам, расшифровка генома табака позволяет лучше понимать продукт, который затем компания предоставляет своим потребителям. «Несмотря на то что молекула никотина очень простая, процесс ее синтеза растением до сих пор остается загадкой. Если кто-нибудь выяснит, как это происходит, это будет очень большое научное открытие. Мы над этим работаем», — уверяет господин Иванов.

Иван Тяжлов