Макарова М.Н.

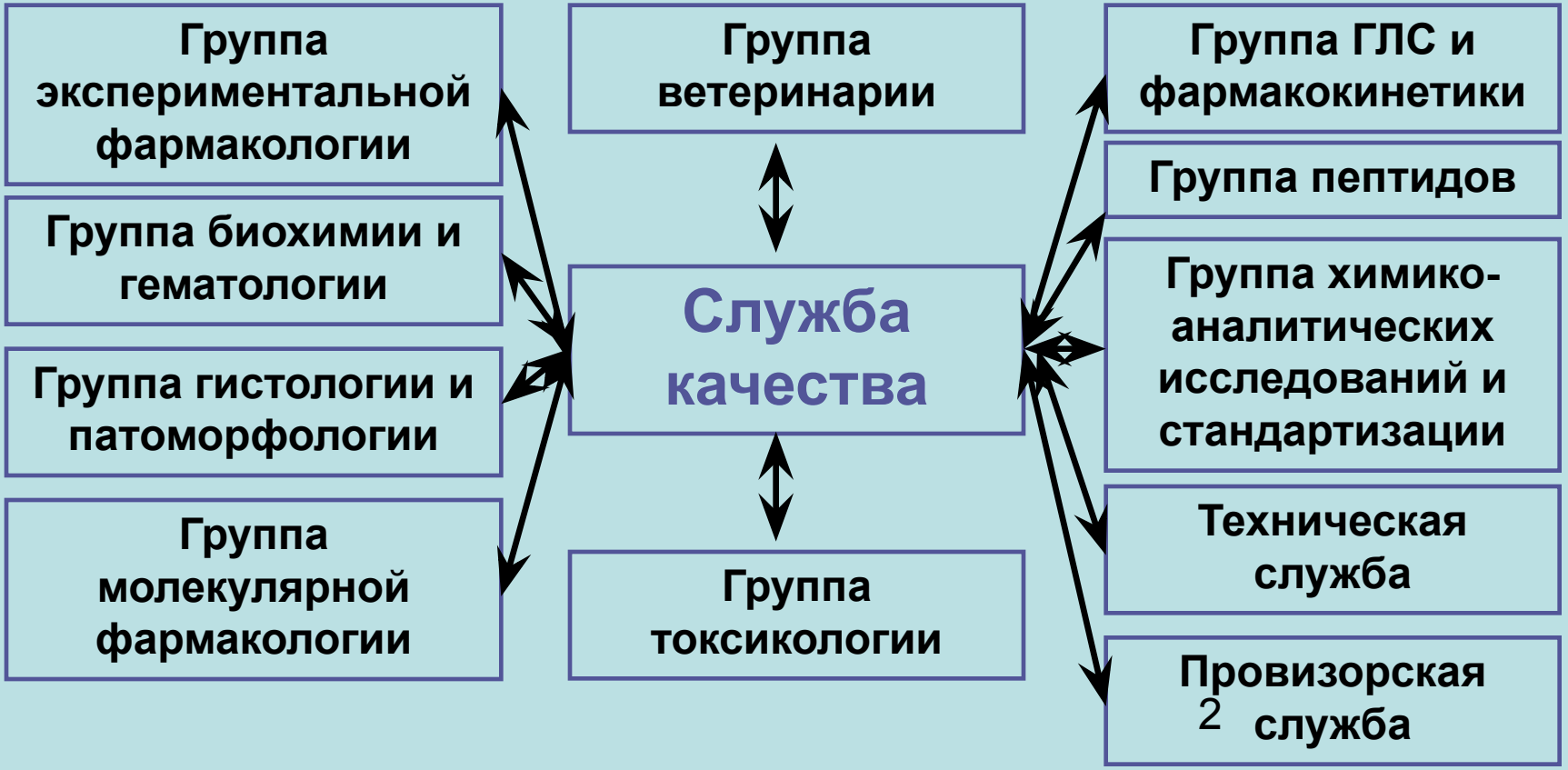
Опыт проведения доклинических исследований оригинальных лекарственных средств в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»

«Санкт-Петербургский институт фармации»,

2012

Протокол (план) исследования

Ответственный персонал



Служба качества

- Наличие утвержденного плана исследования и содержания в нем информации, необходимой для соблюдения принципов надлежащей лабораторной практики.
- Наличие СОП, перечисленных в протоколе, необходимых для проведения данного исследования в общем перечне СОП организации.
- Наличие протокола биоэтической комиссии (БЭК) по данному протоколу.
- Наличие материалов необходимых для проведения исследования по данному протоколу.
- Наличие необходимого оборудования, его исправность и наличие документов на поверку в случае необходимости.
- Соответствие содержания животных «Руководству по содержанию и использованию лабораторных животных» NATIONAL ACADEMY PRESS, Washington, D.C., 1996.
- Наличие ветеринарного свидетельства на партию животных для проведения исследования по данному протоколу.
- Наличие СОП на рабочих местах и выполнение процедур и манипуляций соответственно СОП.
- Статистической обработки данных.
- Наличия и оформления первичных карт.
- Оформление отчета в соответствии с ГОСТ 7.32-2001 «Отчет о научно-исследовательской работе».
- Правильность архивации отчета соответственно ФЗ № 125 «Об архивном деле в Российской Федерации» от 22.10.2004г с изменениями на 13 мая 2008 г. и СОП-АХ.

Протокол (план) исследования

Регулирующие стандарты

- Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. –Washington, D.C. 1996.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific, 2005.
- Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях, Н.Н. Каркищенко, Москва, 2010.
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических лекарственного средства – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005.
- СОП лаборатории.

Протокол (план) исследования

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

1. **Обоснование**
2. **Цель**
3. **Характеристика исследуемых групп**
4. **Методология (прижизненные и терминальные манипуляции и наблюдения)**

Анестезия (в случае необходимости)
Путь и способ введения лекарственного средства
Индукция патологии
Масса тела, клинический осмотр животных
Забор крови
Гематологические, биохимические показатели крови
Физиологические исследования
Макроскопическое и гистологическое исследование

Терминальные манипуляции:
Умирающие животные и животные, найденные мертвыми
Способ эвтаназии

5. **Этические принципы**

Первичные карты

ПЕРВИЧНАЯ КАРТА

ОЦЕНКА РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ [redacted] НА МОДЕЛИ ЛИНЕЙНОЙ КОЖНОЙ РАНЫ

Вид животных, пол	Беспородные крысы-самцы
Группа №1	Контроль
Номер животного	1
Вводимое вещество	гелевая основа
Способ введения	накожно

Течение раневого процесса

5 День **7 день** **11 день** **14 день**

Страница 1 из 15

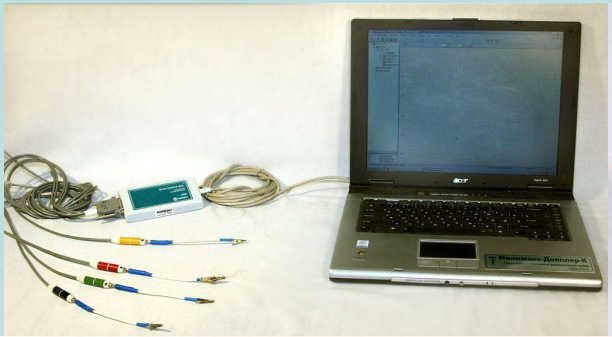
Подпись

«Санкт-Петербургский Институт Фармации»
195248, г. Санкт-Петербург, Партизанская ул., 27, офис 424, Россия. Тел/факс: +7(812)322-5605, 545-2230

Оборудование

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

СПбИФ располагает более 300 наименований экспериментального оборудования, ежегодно проходящего метрологическую поверку и калибровку.



Протокол (план) исследования

Животные

- СПбИФ имеет государственную регистрацию вивария в ГУ «Санкт-Петербургская городская станция по борьбе с болезнями животных».
- СПбИФ получает лабораторных животных из государственных и частных питомников имеющих ветеринарные свидетельства государственного образца Ф №1.
- СПбИФ соблюдает Европейскую конвенцию по защит позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.
- СПбИФ имеет собственную биоэтическую комиссию.
- В виварии СПбИФ содержатся улучшенные конвекциональные животные.

Государственная ветеринарная служба РФ

УПРАВЛЕНИЕ ВЕТЕРИНАРИИ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ГОРОДСКАЯ СТАНЦИЯ ПО БОРЬБЕ С БОЛЕЗНЯМИ ЖИВОТНЫХ"

ВЕТЕРИНАРНОЕ РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ

№ 78-04376

от 7 декабря 2011 г.

Выдано ЗАО "Санкт-Петербургский институт фармации"

Протокол (план) исследования

Виды животных, с которыми возможно проведение работ	Организация-поставщик животных
Мыши аутбредные BALB/c	ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Мыши инбредные C57BL/6	ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Мыши инбредные CBA	ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Крысы аутбредные Sprague Dawley	УРАН ин. Физиологии им. Павлова РАН
Крысы аутбредные Wistar	ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Крысы инбредные Wistar-Kyoto	УРАН ин. Физиологии им. Павлова РАН
Крысы инбредные SHR	УРАН ин. Физиологии им. Павлова РАН
Морские свинки	ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Кролики Калифорнийской породы	ИП Потачук
Кролики породы Советская шиншилла	ИП Потачук ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН
Кролики породы Новозеландская белая	ИП Потачук

Виварные помещения

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

Виварные помещения

Назначение помещения	Площадь, кв.м.	Примечание
Виварий - Карантинный бокс № 5 Экспериментальный бокс № 6 Манипуляторная	41	Осуществляется контроль за содержанием газов в воздухе (CO_2 и аммиака). Осуществляется контроль за температурой (23±3 ^{O}C) и влажностью (60-70%), воздухообмен 290 м^3/час
Виварий - Экспериментальные боксы № 1-2 Манипуляторная	25	
Виварий - Экспериментальные боксы № 3-4 Манипуляторная	31	
Техническое помещение	16	-
Гистологическая лаборатория	26	100 м^3/час
Лаборатория фармакологическая	23	-
Рефрижераторная	9	-
Дезинфекционно-моечное отделение	20	100 м^3/час
Лаборатория биохимическая	30	100 м^3/час
Лаборатория технологическая	32	-
Лаборатория химико-аналитическая	35	-
Лаборатория молекулярной фармакологии	27	воздухообмен 100 м^3/час
Лаборатория физиологии	18	75 м^3/час Осуществляется контроль за температурой (23±3 ^{O}C) и влажностью (60-70%)
Гистологический архив	18	
Архив для органической и неорганической химии	10	
Кормовой склад	20	
Помещение для хранения фармацевтических субстанций	6	

Общая площадь 492 м^2

Полезная площадь: 387 м^2

Содержание животных

Клетки (Charles River)

Подстил (Биосфера)

Корма («Аллер-Петфуд», Провими)

Вода (ГОСТу "Вода питьевая" 2874–82)

Условия окружающей среды:

температура воздуха (20-26°С),
влажность воздуха (60-70%),
содержание CO_2 (не более 0,15 объемных %),
содержание аммиака (не более 0,001 мг/л),
освещенность (12-часовой цикл освещения)

Содержание животных

Акклиматизация и отбор животных для исследования

Карантинные мероприятия:

- входной контроль лабораторных животных при получении из питомников (клинический осмотр, экспресс-диагностика антропозоонозов);
- изоляция поступивших партий животных для прохождения карантина согласно ветеринарным требованиям;
- кормовая, физиологическая и психологическая адаптация лабораторных животных находящихся в карантине.

Экспериментальные условия работы с животными

- на каждое животное ветеринарный врач ведет карты клинического осмотра;
- идентификация лабораторных животных осуществляется нанесением маркера (для мышей и крыс) или при помощи микрочипирования (морские свинки, кролики);
- рандомизация лабораторных животных происходит методом модифицированной блочной рандомизации, для независимого распределения животных в экспериментальные группы
- для каждого исследования организуется заседание биоэтической комиссии с привлечением независимых экспертов;
- сохранение конфиденциальности проводимых экспериментов обеспечивается путем использования внутренней кодировки.

Тестируемые лекарственные средства

- Учет
- Правила безопасности
- Действия с неиспользованными в исследовании веществами

Обработка данных

Анализ данных

Поправки и отклонения протокола

Отчет

Приложения к отчету, предоставляемые Заказчику:

- Копия протокола биоэтической комиссии.
- Копия ветеринарного свидетельства.
- Первичные карты или их копии.
- Копия отчета службы качества.

ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- **75 видов доклинических исследований**
- **128 стандартных протоколов**

ОБЩЕТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Оценка цитотоксического действия (МТТ-тест) фармакологических веществ (ФВ)
2. Острая токсичность ФВ
3. Исследование токсичности ФВ с целью выявления пороговых доз (DRF-протокол)
4. Изучение подострой (субхронической) токсичности ФВ
5. Изучение острой токсичности ФВ для наружного применения
6. Исследование хронической накожной токсичности (21 день) ФВ для наружного применения
7. Исследование хронической токсичности на неполовозрелых особях
8. Исследование хронической токсичности (1, 3, 6 и 9 мес.), кумулятивное действие на половозрелых особях
9. Исследование хронической токсичности ФВ на кроликах с оценкой местно-раздражающего действия

ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ

Исследование аллергизирующего действия ФВ

1. Оценка анафилактогенной активности (реакция общей анафилаксии, анафилактический шок)
2. Кожный тест – активная кожная анафилаксия
3. Конъюнктивальная проба
4. Реакция гиперчувствительности “замедленного” типа (ГЗТ)
5. Реакция иммунных комплексов

Исследование иммунотоксического действия ФВ

1. Определение титра антител (оценка гуморального иммунного ответа)
2. Оценка гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ; оценка клеточного иммунного ответа)
3. Оценка влияния препарата на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов (оценка клеточного иммунного ответа)
4. Определение влияния препарата на пролиферативную активность Т- и В-лимфоцитов, а также синтез IL-2, IL-4 и IFNγ.

ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

Репродуктивная токсичность

1. Исследование влияния на генеративную функцию ФВ
2. Исследование эмбрио- и фетотоксического влияния ФВ, регистрируемого в антенатальный период, с оценкой тератогенного действия
3. Исследование антенатального повреждающего действия ФВ, регистрируемого в постнатальный период

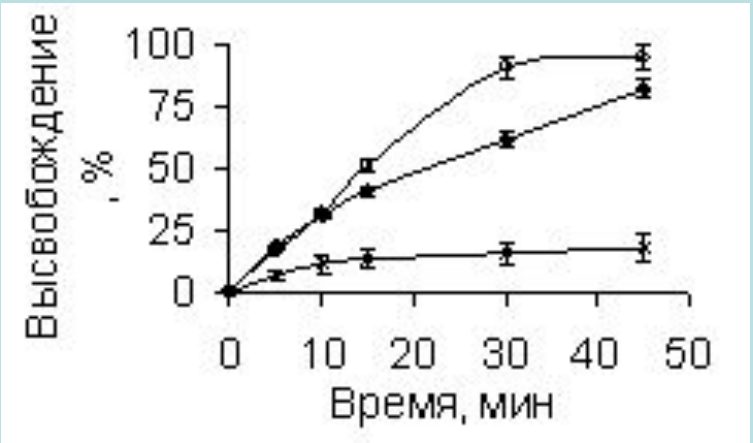
ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

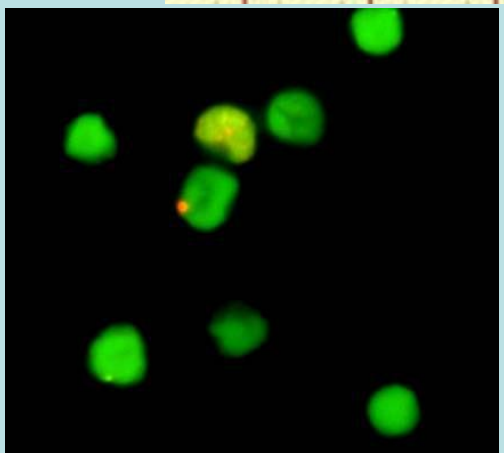
Мутагенность

1. Учет доминантных летальных мутаций
2. Учет микроядер в полихроматофильных эритроцитах периферической крови мышей
3. Тест Эймса

Оценка кардио-токсичности на морских свинках по изменениям на ЭКГ

Фармакокинетика





ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

А. ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

Изучение гастропротекторных ФВ

- Изучение противоязвенного действия ФВ на модели перевязки пилорического отдела желудка по методу Shay
- Определение противоязвенной активности ФВ на модели индометациновой язвы у крыс
- Оценка цитостатического действия ФВ в отношении Helicobacter pylori

Изучение гепатозащитных ФВ

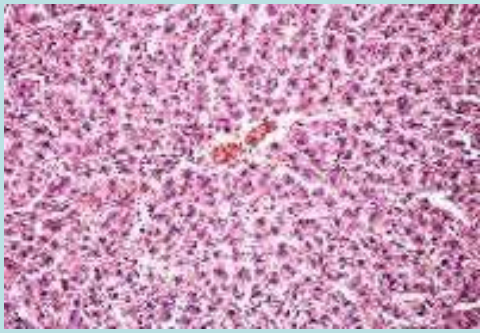
- Оценка активности ФВ на модели острого токсического гепатита, индуцированного четыреххлористым углеродом
- Оценка активности ФВ на модели алкогольного гепатоза

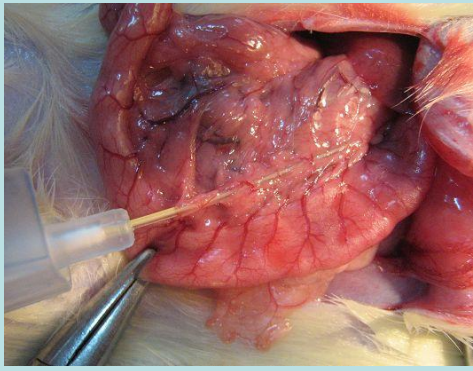
Изучение спазмолитического эффекта ФВ

- Оценка спазмолитического эффекта ФВ на модели ex vivo
- Оценка спазмолитического эффекта ФВ на модели in vivo

Оценка активности ФВ на модели экспериментального панкреатита у кроликов

Изучение влияния ФВ на нормализацию состава желчи на модели литогенной диеты





ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

А. ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЙ ТРАКТ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

1. Изучение влияния ФВ на потребление пищи, ожирение и развитие сахарного диабета II типа под влиянием золотой тиоглюкозы
2. Оценка активности ФВ на модели диабета 2-го типа, индуцированного введением стрептозотоцина
3. Оценка активности ФВ на модели диабета 2-го типа, индуцированного введением аллоксана
4. Изучение влияния ФВ на индуцированную гиперфагию «Диета кафетерия»
5. Оценка эффективности ФВ на модели экспериментального, дительно-текущего сахарного диабета с формированием «диабетической стопы».
6. Изучение гиполипидемического действия ФВ
7. Изучение антиатеросклеротического действия ФВ на кроликах
8. Изучение антиатеросклеротического действия ФВ на морских свинках

Изучение механизмов антиатерогенного действия ФВ

1. Оценка антипролиферативного действия ФВ на клетки эпителиоцитов
2. Определение влияния ФВ на энзиматическую активность ГМГ-КоА-редуктазы
3. Оценка противовоспалительного действия ФВ in vivo на модели каррагенинового пузырька.

ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

С. СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ СИСТЕМА
Изучение антигипоксических ФВ
Изучение гипотензивных ФВ

1. Оценка влияния ФВ на активность ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) in vitro
2. Изучение антигипертензивного влияния ФВ на модели спонтанно-гипертензивных крыс

Изучение ФВ для лечения нарушений коронарного кровообращения

Изучение ФВ для лечения нарушений мозгового кровообращения

Изучение ФВ для лечения нарушений мозгового кровообращения на модели перевязки общих сонных артерий

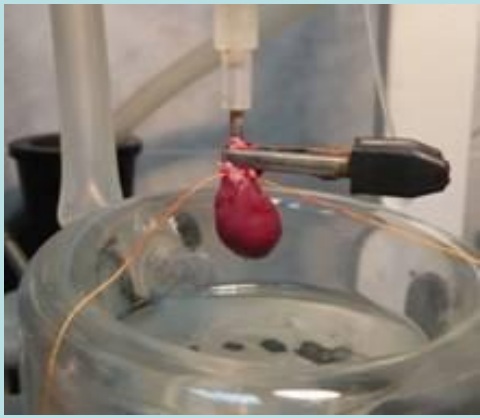
Изучение ФВ для лечения нарушений мозгового кровообращения на модели субарахноидального кровоизлияния

Изучение активности ФВ на модели легочной гипертензии, индуцированной кроталином

Изучение активности ФВ по влиянию на кровоток в сосудах хориоаллантоисной оболочки куриного эмбриона

Оценка активности ФВ на модели диабета, с оценкой капилляропротекторного действия

Оценка активности ФВ на модели хронической сердечной недостаточности (ХСН) по тотальному типу

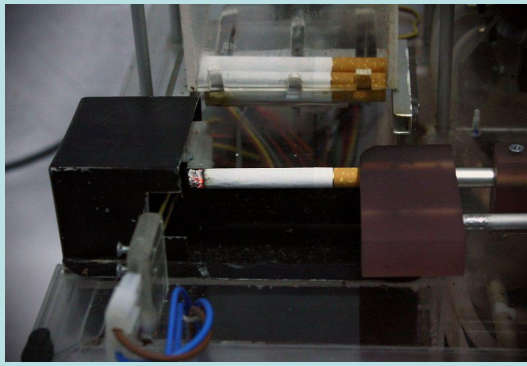


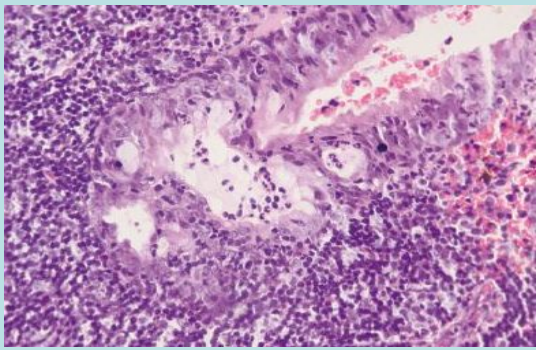
ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

R. ДЫХАТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА

1. Изучение активности ФВ на модели аллергического воспаления и гиперреактивности дыхательных путей у морских свинок
2. Исследование активности ФВ на модели острого риносинусита
3. Исследование активности ФВ на моделях химически-индуцированного плеврита
4. Исследование активности ФВ на моделях химически-индуцированного бронхита
5. Исследование активности ФВ на модели ХОБЛ, индуцированной сигаретным дымом
6. Исследование активности ФВ на модели LPS-индуцированного острого респираторного дистресс-синдрома
7. Исследование активности ФВ на моделях химически-индуцированной пневмонии
8. Исследование активности ФВ на модели экспериментального тонзиллита





ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

М. КОСТНО-МЫШЕЧНАЯ СИСТЕМА

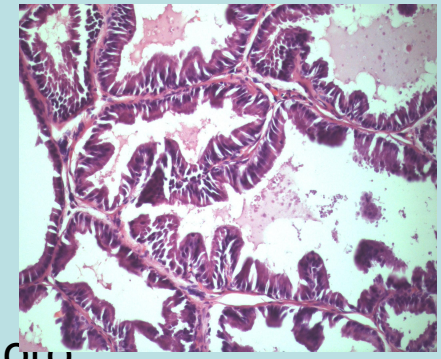
Изучение противовоспалительных фармакологических веществ

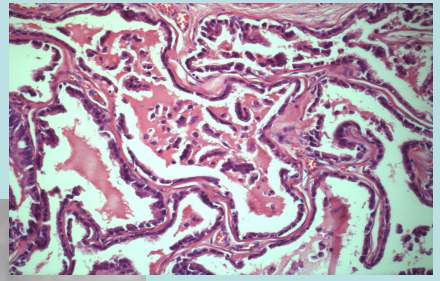
1. Изучение противовоспалительной активности ФВ на модели хронического (адьювантный артрит) воспаления у крыс-самок линии Wistar
2. Оценка противовоспалительной активности ФВ на модели подострого воспаления: формалиновый артрит у крысы
3. Оценка противовоспалительной активности ФВ на модели воспаления: каррагениновый воздушный мешочек у крыс
4. Оценка противовоспалительной активности ФВ на модели воспаления: Каррагенин-индуцированный отек лапы крысы
5. Оценка влияния ФВ на энзиматическую активность циклооксигеназы-1/-2
6. Оценка влияния ФВ на энзиматическую активность 5-липооксигеназы
7. Оценка влияния ФВ на продукцию про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, ИЛ-10) в культуре клеток и у крыс
8. Оценка влияния ФВ на внутриклеточный сигналинг (активацию MAP-киназ p38, JNK1/2, ERK1/2) в культуре клеток
9. Оценка влияния ФВ на активацию транскрипционных факторов (NF-kB и др.) в культуре клеток

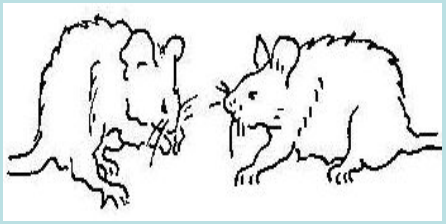
Оценка активности ФВ на модели экспериментального остеопороза у самок крыс линии Wistar

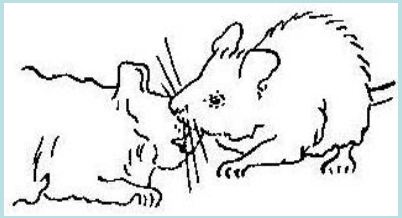
ВИДЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

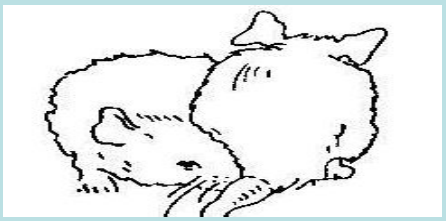
- **G. МОЧЕПОЛОВАЯ СИСТЕМА**
- Оценка активности и механизма действия ФВ на модели хронического простатита
- Оценка активности ФВ на модели эректильной дисфункции
- Изучение мочегонного действия ФВ в методике водного диуреза на крысах

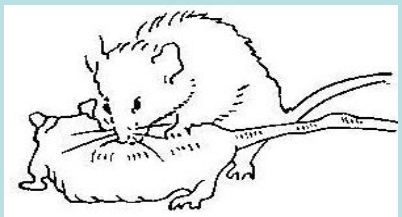












INSTITUTE OF PHARMACY
PONS VITAE
ST. PETERSBURG

Спасибо за внимание