



ВОЛГОГРАДСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ

---

# **ЭТИЧЕСКИЕ НОРМЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ.**

---

**Вопросы этики эксперимента с использованием животных называют деонтологией эксперимента.**

**Для медико-биологических исследований используют 9 видов животных (*мыши, крысы, хомяки, морские свинки, кролики, кошки, собаки, обезьяны, куры*).**

**65% животных используется фармакологами при создании лекарственных средств.**

## **Принцип трех Rs (замена, сокращение, усовершенствование)**

- **Принципы гуманной методологии медико-биологических экспериментов на животных (У.М.С.Рассел и Р.С.Берч, 1959 г.)**
- **1. Замена (Replacement) - использование вместо живых животных альтернативных материалов и методов:**
  - **а) замена позвоночных животных на беспозвоночных;**
  - **б) использование культуры тканей и микроорганизмов;**
  - **с) компьютерные и математические методы;**
  - **д) обмен информацией для избежания неоправданного дублирования.**

## Принцип трех Rs

(замена, сокращение, усовершенствование)

- **2. Сокращение (Reduction) - уменьшение количества животных, используемых в эксперименте т.е. - достижение воспроизводимых результатов с использованием минимального количества животных.**
  
- **3. Усовершенствование (Refinement) - усовершенствование технологии работы с лабораторными животными (свести до минимума боль, дискомфорт и неудобства у подопытных животных в процессе эксперимента).**

# Акт о научных процедурах на животных

(включает статьи об условиях содержания животных).

- **1. Запрещает использование бродячих животных.**
- **2. Содержит схему снабжения животными исследовательских учреждений.**
- **3. Каждое крупное животное (собака, кошка, обезьяна) должно иметь индивидуальную регистрационную карту.**
- **4. Особенно строго предусмотрен выбор обезболивающих средств.**
- **5. Вводит лицензионную систему на работу с животными.**
  
- Контроль за исполнением закона осуществляют главный инспектор, 3 управляющих и 17 локальных инспекторов.

---

**Наблюдательные комитеты по этике (НКЭ)  
или  
Ведомственные комитеты по уходу за  
животными и их использованию (ВКУЖИ).**

**Состав**

- *специалисты по этике,*
- *специалисты по «альтернативным способам»,*
- *консультанты по благополучию животных,*
- *специалисты по лабораторным животным.*

**Задача специалистов состоит в объективной оценке и обсуждении заявленных исследований и выработке рекомендаций по их улучшению с целью сведения к минимуму страданий животных.**

---

# **Центр по утверждению (валидации) альтернативных методов (ЕСVAM), Северная Италия.**

*Способствует разработке альтернативных  
(заменяющих эксперименты на животных) методов*

*Проверяет и утверждает адекватность новых или уже  
имеющихся методов*

*Проводит информационную работу*

*Организует научные конференции и семинары.*

## Необходимость создания правил по качественным доклиническим исследованиям

1. **Некачественно выполняемые эксперименты** (*множественные нарушения в документации, планировании, плохое обращение с животными*)
2. **Плохо подготовленный персонал**
3. **Отсутствие должного контроля** (*со стороны независимых контролирующих органов, заказчика (спонсора) и отсутствие подразделения обеспечения качества*)
4. **Непродуманные протоколы исследований**
5. **Отсутствие нормативных правовых актов и методических документов, регламентирующих доклинические исследования**

# Создание правил по качественным доклиническим исследованиям

- **Продиктовано -внедрением в клиническую практику высокотоксичных препаратов (наиболее известный седативный препарат талидомид /1962 г/, в связи с чем стали разрабатываться требования к изучению репродуктивной токсичности).**
- **В 1976 г.- FDA публикует первую редакцию качественной лабораторной практики – GLP**
- **В 1983, а затем в 1997 г.– данные правила прошли окончательную редакцию EPA GLP (стали использоваться в странах Европы, Канады, США, Новой Зеландии, Японии)**
- **European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.**

## **Нормативно правовые документы в России**

**В нашей стране регламентационным документом является Приказ МЗ СССР от 12.08.77 N 755. (Характерной особенностью его является этичность и ответственность экспериментатора за используемое животное).**

**В 1975 г. – появление первых руководств по экспериментальному и клиническому изучению новых ЛС, утвержденные МЗ СССР**

**В 1978, 1983, 1985, 1986, 1989 – различные этапы усовершенствования и редактирования данных требований МЗ СССР**

# Нормативно правовые документы в России

- В 1999г Государственной Думой РФ был принят первый федеральный закон «О защите животных от жестокого обращения» (в ст. 9 определены основные этические требования, регламентирующие обращение с животными при использовании их в научных экспериментах, биологическом тестировании, оценке влияния негативных факторов внешней среды на живой организм, а также разработке и получении биологически активных препаратов).
- В 1998, 2003, 2005, 2010, 2012 - издание нормативно правовых актов и методических документов, регламентирующих доклинические исследования безопасности и эффективности лекарств в России.
- Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009

Слайд 9

# Нормативно правовые документы в России

- **ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЗАКОН №61-ФЗ «ОБ ОБРАЩЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ»** (с изменениями и дополнениями ФЗ от 13.07.2015 N 241-ФЗ и ФЗ от 22.12.2014 N 429-ФЗ в редакции от 13.07.2015)
- **Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики»**
- **.ПРИНЦИПЫ НАДЛЕЖАЩЕЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ПРАКТИКИ (ГОСТ 33044-2014)**

# Нормативно правовые документы в России

## Действующие ГОСТы

- **ГОСТ 31879-2012 Применение Принципов GLP к краткосрочным исследованиям**
- **ГОСТ 31880-2012 Руководство по проведению инспекций испытательных центров и аудитов исследований**
- **ГОСТ 31881-2012 Роль и обязанности руководителя исследований в соответствии с Принципами GLP**
- **ГОСТ 31882-2012 Организация и контроль архивов**
- **ГОСТ 31883-2012 Обеспечение качества в соответствии с Принципами GLP**

# **Нормативно правовые документы в России**

- **ГОСТ 31884-2012 Соответствие поставщиков испытательного центра Принципам GLP**
- **ГОСТ 31885-2012 Применение Принципов GLP к исследованиям в полевых условиях**
- **ГОСТ 31886-2012 Руководство по процедурам мониторинга соответствия Принципам GLP**
- **ГОСТ 31887-2012 Применение Принципов GLP к компьютеризированным системам**
- **ГОСТ 31888-2012 Роль и обязанности спонсора в соответствии с Принципами GLP**

# Нормативно правовые документы в России

- **ГОСТ 31889-2012** Подача заявки и проведение инспекций и аудитов исследований в другой стране
- **ГОСТ 31890-2012** Руководство по подготовке отчетов об инспекциях испытательных центров
- **ГОСТ 31891-2012** Организация и управление исследованиями, проводимыми на нескольких испытательных площадках
- **ГОСТ 31892-2012** Применение Принципов GLP к исследованиям *in vitro*

# Этические принципы

- Учреждения могут проводить работу на животных при соблюдении условий:
- а) наличия вивария (экспериментально-биологической клиники), оборудованного в соответствии с санитарными требованиями N 1045-73 от 06.04.73;
- б) наличия экспериментальной операционной (лаборатории) с соответствующим оборудованием;
- в) наличия штата сотрудников, обеспечивающих уход за животными.
- Условия содержания животного в виварии должны полностью соответствовать требованиям СНИП.

# Факторы, влияющие на животных

## 1. Физические:

- А) Температура 18-- 26° С.
- Б) Влажность 30 – 70%
- В) Освещение до 325 люкс, 12 час. период
- Г) Шум до 85 дБ.

## 2. Химические:

Воздух (10 – 15 кратная смена в течение часа);

Корм, вода, подстил (должны обеспечивать отсутствие от патогенных микроорганизмов, не влиять на результаты исследований)

## 3. Социальные факторы:

*Мыши* – масса до 25 г, содержаться по 3– 5 особей,

*Крысы* – масса 200 – 400 г., содержаться по 4 – 5 особей,

4. Биологические: вирусы, бактерии, грибы, экто- и эндопаразиты

# Принципы работы с лабораторными животными

- **Интактные живые животные разнообразных видов, здоровые. Ограничиваться минимальным их количеством.**
- **Исследователям и персоналу обращаться и использовать животных с минимально причиняемым им неудобств и боли.**
- **Вмешательства выполнять с применением надлежащих седативных, анальгетических или наркозных средств в соответствии с нормами, принятыми в ветеринарной практике .**
- **К концу эксперимента животных умерщвлять безболезненным способом**

# Принципы проведения доклинических испытаний

1. ЗАКАЗЧИК <> РУКОВОДИТЕЛЬ ОРГАНИЗАЦИИ \*
2. Руководитель исследования –лицо, полностью контролирующее исследование и его техническое выполнение
3. Ответственные исполнители – отвечают за качество исследований: обеспечивают подготовку и проведение ключевых этапов исследования, включая обучение персонала; контроль соблюдения стандартных методов и процедур; сбор и документирование полученных данных; ведение учета непредвиденных обстоятельств и принятие мер по их устранению; представление результатов исследований в виде отчета.
4. Группа обеспечения качества (ГОК)

\* - назначаются лица, ответственные за мониторинг исследований из сотрудников, не участвующих в исследованиях

# Стандартные операционные процедуры (соп)

Стандартные операционные процедуры (СОП) – документированные процедуры, содержащие описание процессов проведения испытаний или другой деятельности, не представленных детально в планах исследования или руководствах по проведению испытаний [ГОСТ 33044-2014].

# Принципы создания

1. Написание СОП осуществляется квалифицированными специалистами.
2. СОП утверждается руководством исследовательской организации и подлежит строгому исполнению, так как формирует правильное и пошаговое представление о процедуре или манипуляции, что уменьшает вероятность допущения ошибок и гарантирует высокое качество работы.
3. Все отклонения от СОП документируются как первичные данные. Кроме того, рассматривается вопрос о влиянии этого отклонения от СОП на качество получаемых данных.

## **Принципы создания**

**4.СОП подлежит своевременному пересмотру. Очередной пересмотр обычно проводят один раз в 2 года.**

**5.Если СОП утрачивает актуальность в связи с изменением методики или заменой оборудования, все копии документа изымаются из обращения, и оригинал передается в Архив.**

**6.Содержание СОП может быть изменено, дополнено или сокращено до наступления периода пересмотра, если это необходимо для работы. В этом случае оформляется поправка к СОП. При пересмотре учитываются все имеющиеся поправки. Оригиналы устаревших версий СОП сохраняются в Архиве.**

## **Исследования, выполняемые по правилам GLP, проводятся в соответствии с СОП.**

**1. Если СОП отсутствуют, инспекторы (представители Заказчика или вышестоящей организации) считают, что данные, собранные в ходе исследования, не являются надежными и проверяемыми.**

**2. Каждому подразделению и/или каждой площадке испытательного центра незамедлительно должны быть доступны действующие СОП, относящиеся к их деятельности. В дополнение к СОП допускается также использовать иные печатные издания, методические руководства, справочники и специальные статьи.**

**3. Отклонения от СОП в ходе исследования должны быть зарегистрированы и признаны (завизированы) руководителем исследования и (при необходимости) ответственными исследователями [ГОСТ 33044-2014].**

## **Программа СОП организации**

**Программа СОП должна включать в себя следующие элементы:**

- 1.Тестируемые и стандартные объекты исследования.**
- 2.Приборы, материалы и реактивы.**
- 3.Текущие записи, отчетность, хранение и извлечение информации.**
- 4.Тест-системы.**
- 5.Программа обеспечения качества.**

## **СОП при проведении исследований**

**Необходимый перечень СОП при проведении доклинического исследования должен включать следующие позиции:**

- Животные - транспортировка, прием, идентификация, рандомизация, маркировка, обращение, взятие проб, наблюдение, эвтаназия, обращение с мертвыми животными**
- Приборы - эксплуатация, техобслуживание, калибровка, очистка, допуск в эксплуатацию**
- Реактивы - приготовление, маркировка, хранение, учет**
- Записи - сбор данных, обработка данных, подготовка отчетов, архивирование**
- Тест-системы - подготовка помещений, условия окружающей среды, прием, передача материалов, размещение, установление характеристик, идентификация, уход, наблюдение, уничтожение**

# **СОП при проведении исследований**

**Образцы - сбор, идентификация, обращение, вскрытие, гистопатология**

**Лабораторные испытания - методы, валидация**

**Управление и организация - система документооборота, обучение персонала, аудит и инспекции, архивирование**

**Компьютерные системы - проверка, эксплуатация, безопасность, резервирование, валидация**

# Содержание СОП

При написании СОП на первой странице указывается следующая служебная информация:

1. Название исследовательской организации.
2. Название СОП.
3. Порядковый номер СОП.
4. Номер версии СОП.
5. Номер страницы из общего количества страниц.
6. Дата введения СОП.
7. Ф.И.О. и должность автора СОП.
8. Ф.И.О. и должность сотрудника, утвердившего СОП.
9. Форма обучения СОП (чтение или практическое занятие).

# Содержание СОП

**В содержательной части СОП:**

- 1. Цель создания документа**
- 2. Персонал, которому предназначен СОП**
- 3. Полное описание процедуры или манипуляции**
- 4. При необходимости: техника безопасности, ссылки на другие СОП, книги, руководства и др.**

**В качестве приложений к СОП могут выступать различные бланки, которые будут использоваться для регистрации данных, полученных при выполнении процедуры.**

# **Основные нарушения, связанные с СОП**

**1.Отсутствие.**

**2.Невыполнение.**

**3.Устаревшие версии.**

**4.Недоступность на рабочем месте.**

**5.Неутвержденные версии.**

**6.Неясное изложение.**

# Необходимые СОП

## Административные процедуры:

1. Утверждение, рассмотрение и пересмотр СОП.
2. Организационная структура подразделения.
3. Программа обучения персонала.
4. Обязанности Руководителя исследования.
5. Ведение документации и передача в архив.
6. Протокол исследования.
7. Документация отклонений от СОП и Протокола исследования.
8. Манипуляции с первичными данными.
9. Подготовка заключительного отчета.
10. Процедура аудита исследования.

# Необходимые СОП

## Проведение исследования:

1. Прием животных, карантин, адаптация.
2. Подготовка помещений для животных.
3. Рутинные манипуляции по уходу за животными.
4. Размещение и идентификация животных.
5. Программа контроля состояния животных.
6. Хранение и подготовка корма, подстила.
7. Санитарная обработка клеток, инвентаря.
8. Процедуры введения тестируемого вещества.
9. Измерения и наблюдения за тест-системой.
10. Сбор и маркировка образцов.
11. Обращение с умирающими и умершими животными.
12. Процедура эвтаназии.
13. Обращение с тестируемым и контрольным веществами.
14. Калибровка, стандартизация и профилактика оборудования.

# Необходимые СОП

**Правила техники безопасности:**

- 1. Гигиена и защита здоровья.**
- 2. Использование индивидуальных средств защиты.**
- 3. Работа с опасными химическими агентами.**
- 4. Действия при аварийных ситуациях и при производственной травме.**

**Архив:**

- 1. Требования GLP к архиву.**
- 2. Материалы, подлежащие хранению в архиве.**
- 3. Поступление материалов на хранение и их выдача.**

# Протокол исследования

- Становится официальным после его утверждения.
- Удобный, лаконичный, не перенасыщенный информацией документ, позволяющий быстро найти необходимую информацию по исследованию.
- Содержит название исследования, цель, вид животных, возраст, масса, дата и время тестирования, путь введения препарата, время введения. ФИО исполнителя и соисполнителя. В разработанных картах заполняются индивидуальные первичные данные тестирования животных (метка животного, способ и дата доставки с указанием массы и возраста, общие характеристики до начала и перед началом эксперимента, доза введения препарата, длительность исследований)

## Протокол исследования

- План и даты манипуляционных работ с животными
- Указывается 2-х недельное содержание на карантине животных в виварии
- Вносится также информация об изменениях, произошедших в ходе тестирования
- Протокол подписывается исполнителями, используется для составления отчетной документации

# Обязанности ГОК

1. **Обеспечивать качественное проведение исследований (помещений, оборудований, сохранности всех документов )**
2. **Своевременно информировать ответственных исполнителей о любых отклонениях от протокола и СОП.**
3. **Проведение инспекции рабочих мест, оборудования, состояние комнат, хранилищ, наличие сертификатов, проверка протоколов идентификации тестируемого препарата и протоколов исследований**
4. **Помещение для исследований (устройство, размер, оборудование) должны соответствовать выполнению СОП**  
**Помещения для работы с препаратами (получение и хранение, смешивание смесей, хранения смесей)**
5. **Помещение для архива (все экспериментальные данные подлежат архивированию (бумажные носители до 15 лет, мокрые и фиксированные до 3 л), с ограниченным к ним доступом**

---

# **ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ**

---

# Программа доклинических токсикологических испытаний

- Комплекс исследований, который включает изучение общетоксических и спецификотоксических свойств.
- Раздел общетоксических свойств
  - *острая токсичность* (установить дозы веществ - максимально переносимые, летальные и расчет ЛД<sub>50</sub> и ТИ).
  - *кумуляция* (проводится любым доступным методом, предпочтение – метод Лима)
  - *хроническая токсичность* (основывается на данных острой токсичности и кумуляции).

# Острая токсичность

- **токсикометрическая характеристика фармакологического вещества или ЛП, выражающая его способность вызывать гибель животных при однократном введении или при введении через короткие (не более 6 ч) интервалы времени в течение суток.**
- **Целью изучения является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества и причин наступления гибели животных с анализом клинической картины интоксикации.**

## **Острая токсичность**

- **Параметры острой токсичности ЛС вычисляются с помощью любых статистических методов (предпочтение отдается методам, позволяющими провести сравнительную оценку исследованных параметров для двух или более фармакологических веществ. Использованный метод расчета среднелетальных доз указывается в отчете (метод Литчфилда и Уилкоксона).**
- **В исследованиях с использованием крупных животных достаточно описания токсических эффектов без достижения летальности.**

## **Острая токсичность**

**Используют 2 вида животных** (исследования на самцах и самках проводят отдельно. В группе - 5 особей грызунов, при использовании собак или кроликов -3 особей).

**Используется путь, при котором была показана специфическая фармакологическая активность вещества, и путь, который предполагается для клинического применения.**

**Фармакологические вещества, предназначенные для системного введения, вводят перорально и парентерально (внутрибрюшинно, если не растворимы в воде, внутривенно и подкожно, если растворимы).**

# Острая токсичность

- Наблюдения за животными составляют 14 дней.
- Фиксируют:
  - общее состояние животных,
  - их поведение,
  - двигательную активность,
  - судороги,
  - координацию движений,
  - тонус скелетных мышц,
  - реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители,
  - частоту дыхания,
  - ритм сердечных сокращений,
  - состояние шерстного и кожного покрова,
  - окраску слизистых оболочек,
  - размер зрачка,
  - положение хвоста,
  - количество фекальных масс, частоту мочеиспускания и окраску мочи,

# Острая токсичность

- **потребление корма и воды,**
- **изменение массы тела**
- **исследуют некоторые гематологические показатели (морфологические, биохимические, свертываемость крови).**
- **Регистрируют сроки развития интоксикации и гибели животных.**
- **Проводят макроскопическое исследование внутренних органов погибших животных и микроскопическое исследование (степень кровенаполнения органов, наличие кровоизлияний, изъязвлений слизистых оболочек и др.).**

# Кумуляция

- учитывают индекс кумуляции фармакологического вещества, т. е. отношение ЛД<sub>50</sub> при однократном введении к ЛД<sub>50</sub> при кратном введении. Используют методы, основанные на учете гибели животных при повторном введении фармакологического вещества.
- Предпочтение отдают оценке кумуляции методом Lim R.K. (1961), позволяющим оценить не только кумулятивные свойства, но и привыкание.

# Хроническая токсичность

- Целью является характеристика повреждающего действия фармакологического вещества при его длительном введении, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма, а также исследование возможности обратимости вызываемых повреждений.
- Продолжительность введения фармакологического вещества зависит от предполагаемой длительности его применения в клинике, планируемой фазы КИ и видовой принадлежности лабораторных животных

# Хроническая токсичность

- на двух видах животных (1 вид – обязателен, на котором выявлен фармакологический эффект).
- Воспроизведенный препарат-испытания можно проводить на 1 виде животных с одновременным параллельным испытанием фирменного аналога.
- Для веществ сложных, в состав которых входит несколько ингредиентов, исследуется как сама композиция, так и все ее составные части.

# **Хроническая токсичность**

- **Длительность - с учетом курса его клинического использования, испытываемые дозы- не менее 2-3 (чаще три). Частота введения веществ в неделю-7 раз.**
- **Наблюдения за животными ежедневные**
- **Взвешивание животных 1 раз в неделю.**
- **Отмечают потребление корма и воды.**
- **Состояние шерстного покрова и слизистых оболочек, поведение.**

# Хроническая токсичность

- **Функциональное состояние сердечно-сосудистой, нервной, выделительной и пищеварительной систем, изучают морфологические и биохимические показатели крови.**
- **Погибших животных обследуют макро- и микроскопически**
- **Методы исследований- выбираются на усмотрение исследователей и программы мероприятий**
- **Исключать спонтанную заболеваемость, временные осложнения в питании, содержании и пр.**

# Раздел общетоксических исследований

## Представлять данные:

- По широте терапевтического и токсического действия.
- Характеру и обратимости выявленной патологии.
- По возможности составить доклинический прогноз побочных реакций.

# Раздел общетоксических исследований

**Соотношение терапевтической ценности препарата и нежелательных эффектов т.е. польза/риск в отчете необходимо осветить следующие вопросы:**

- **какие органы или системы наиболее чувствительны к препарату (органы – мишени или системы-мишени);**
- **какова дозовая зависимость выявленных патологических эффектов;**
- **насколько обратимы выявленные изменения;**
- **Каково соотношение «польза/риск» для данного вещества**

# **Доклинические токсикологические испытания**

- **Таким образом, доклинические исследования необходимы для получения научными методами оценок и доказательств безопасности, качества и эффективности лекарственных средств .**
  
- **Результаты доклинических исследований лекарственных средств необходимо представить с целью регистрации или проведения клинических исследований лекарственного препарата в РФ.**