

## Лекція № 12

### Тема: Методичні принципи та основні аспекти застосування фармакологічних засобів у медико-біологічному експерименті

План:

1. Дозування лікарських засобів для експериментальних тварин.
2. Поняття про доклінічні дослідження.
3. Вивчення загальнотоксичної дії.
4. Фактори, що впливають на чутливість тварин до фармакологічних речовин.

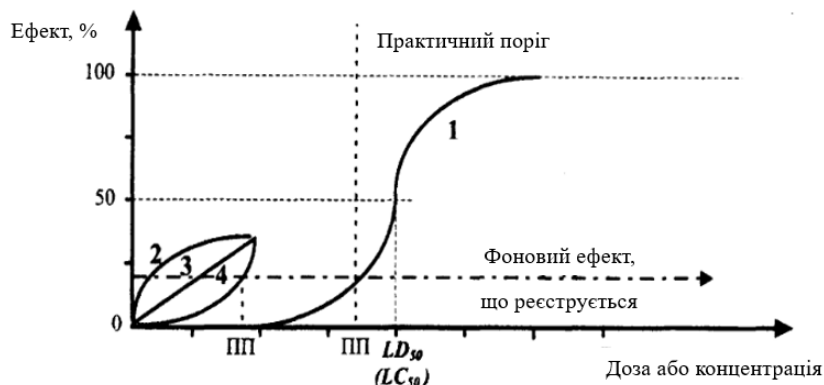
#### 1. Дозування лікарських засобів для експериментальних тварин.

ДОЗА - кількість речовини, що введена в організм за один прийом; виявляється у вагових, об'ємних чи умовних (біологічних) одиницях..

Розрізняють такі види доз:

- субпорогова – не викликає фізіологічного ефекту за вибраним показником;
- порогова – викликає початкові прояви фізіологічної дії за показником, що реєструється;
- терапевтична – діапазон доз, що спричиняють лікувальний ефект в умовах експериментальної терапії;
- токсична – викликає отруєння (різке порушення функцій та структури організму);
- максимально переносима (толерантна) (ДМТ) – викликає отруєння без смертельних наслідків;
- ефективна (ОД) – викликає програмований ефект у певному (заданому) відсотку випадків;
- ЛД50 – викликає загибель 50% піддослідних тварин; Іноді зустрічаються абревіатури LC50 (англ. lethal concentration, летальна концентрація) або LCt50 (англ. lethal concentration and time, летальна концентрація та час дії). Застосовуються зазвичай для отруйних газів, позначаючи летальну концентрацію газу повітря і час впливу.
- ЛД100 – викликає загибель 100% піддослідних тварин.

При збільшенні фармакологічної дози, дія речовин зазвичай посилюється. Залежність між дозою і фармакологічним ефектом для різних речовин може носити різний характер. Існує лінійна **залежність між дозою та ефектом** (ефект збільшується відповідно збільшенню дози), гіперболічна залежність (при збільшенні дози ефект наростає спочатку швидко, а потім повільно) і S-подібна залежність (при збільшенні дози ефект ліків наростає спочатку повільно, а потім швидко, після чого знову сповільнюється).



Де: ПП – практичний поріг

Крива 1 показує, що якщо подібна S-подібна залежність ефекту від дози має місце, то жодних змін у метаболізмі людського організму не спостерігається, доки не буде досягнуто критичної концентрації або дози. Це критичне значення називається практичним порогом (ПП)

2 – надлінійна залежність «доза-ефект» (з опуклістю вгору), що спостерігається, коли малі дози спричиняють непропорційно великі ефекти (наприклад, радіаційні ефекти в області малих доз)

- 3 – лінійна безпорогова форма залежності «доза-ефект»
- 4 – підлінійна залежність «доза-ефект» (з опуклістю вниз)

В рецепті дози вказують в грамах, мілілітрах або біологічних одиницях дії (ОД). При лікуванні застосовують такі дози:

- а) разова доза – кількість речовини однією прийом
- б) добова доза - кількість препарату, що призначається на добу за один або кілька прийомів.
- в) курсова доза – загальна кількість препарату на курс лікування
- г) терапевтичні дози - дози, в яких препарат використовують із лікувальними або профілактичними цілями (порогові, або мінімальні діючі, середні терапевтичні та вищі терапевтичні дози).
- д) токсичні та смертельні дози – дози ЛР, за яких вони починають надавати виражені токсичні ефекти або викликати смерть організму.
- е) завантажувальна (вступна) доза – кількість введеного ЛЗ, яке заповнює весь обсяг розподілу організму в діючій (терапевтичній) концентрації.
- ж) підтримуюча доза - систематично вводиться кількість ЛЗ, що компенсує втрати ЛЗ з кліренсом

**Мінімальна** доза, в якій лікарський засіб надає лікувальну дію, позначається як мінімальна терапевтична доза, а найбільша допустима доза - як вища терапевтична доза. Розрізняють **вищі разові і вищі добові** дози. У практиці найчастіше використовують **середні терапевтичні дози**.

При перевищенні терапевтичних доз лікарські препарати надають **токсичну дію**, у зв'язку з чим виділяють також мінімальні, середні токсичні і смертельні дози.

Діапазон між **мінімальною терапевтичною** та **мінімальною токсичною дозами** приймають за **широту терапевтичної дії**. Оскільки в лікувальній практиці мінімальні терапевтичні дози використовують дуже рідко, про широту терапевтичної дії лікарських засобів зазвичай судять за інтервалом між його **середньою терапевтичною і мінімальною токсичною дозами**. Велика широта терапевтичної дії розцінюється як позитивна властивість лікарського засобу, оскільки дозволяє у великих межах варіювати індивідуальні дози.

Відомо, що ті самі речовини можуть не впливати на здоровий організм або орган і, навпаки, проявляти виражений фізіологічний ефект щодо хворого. Наприклад, здорове серце не реагує на дигіталіс, як хворе. Малі дози деяких гормональних речовин мають виражену дію на хворий організм, не проявляючи активності на здоровому.

Величина застосовуваних доз може залежати від характеру патології, при якій застосовують лікарський засіб, а також від особливостей організму. При хіміотерапії інф. хвороб нерідко на початку лікування призначають високу (ударну) дозу хіміотерапевтичного препарату. При лікуванні ряду хронічних захворювань іноді спочатку призначають ліки більш часто і в більш високих дозах, для того щоб створити необхідний рівень лікарської речовини в організмі (насичуючі дози), а потім переходять на невеликі (підтримуючі) дози.

Дітям лікарські засоби призначають в менших дозах, ніж дорослим. Для дітей певного вікового періоду (до 6 міс., від 6 міс. до 1 року, на 2 роки, в 3-4 роки, в 5-6 років, в 7-9 років і 10-14 років) і для дорослих у Державній фармакопеї наводяться вищі разові та добові дози отруйних і сильнодіючих лікарських засобів. Ці дози не можна перевищувати без відповідних показань.

При призначенні лікарських засобів людям старше 60 років дози багатьох препаратів, що пригнічують ц. н. с., серцевих глікозидів і сечогінних засобів зменшують до 1/2, а дози інших отруйних і сильнодіючих речовин - до 2/3 від доз, встановлених для осіб середнього віку.

## 2. Поняття про доклінічні дослідження.

Доклінічні дослідження (ДІ) - це основоположний етап розробки та впровадження лікарського препарату (ЛП) в клінічну практику, що дозволяє своєчасно вивчити фармакологічні, токсичні та

фармацевтичні властивості (ФС) і оцінити ефективність і безпеку фармакологічного засобу і складають значну частину реєстраційного досьє, формованого з метою державної реєстрації ЛП. Результати доклінічного дослідження подаються разом з протоколом клінічних досліджень і проектом інструкції по медичному застосуванню для вирішення питання про можливість проведення клінічних досліджень.

З моменту формування ідеї про створення нового лікарського препарату, процес його розробки нерозривно пов'язаний з проведенням скринінгових доклінічних досліджень. Такі дослідження дозволяють оцінити ефективність того чи іншого речовини або їх комбінації і вибрати найбільш оптимальний склад майбутнього ЛП. Після затвердження складу ЛП проводять доклінічні дослідження безпечності та ефективності.

Доклінічні дослідження безпеки ЛП спрямовані на виявлення можливого шкідливого дії ЛЗ та оцінку безпеки його застосування. Такі дослідження умовно діляться на два великі блоки:

- Дослідження загальної токсичності, куди входить оцінка гострої, субхронічної і хронічної токсичності. На даному етапі відбувається виявлення токсичних доз і основних органів і систем організму, схильних до пошкоджуючої дії фармакологічного засобу.
- Дослідження специфічної токсичності спрямоване на виявлення репродуктивної токсичності (ембріотоксичності, тератогенності, впливу на генеративну функцію), алергенність, імунотоксичності, мутагенності і канцерогенності фармакологічного засобу.

Проводяться доклінічні дослідження на тваринах, щоб мінімізувати ймовірність несприятливих реакцій при випробуванні на людях. Саме доклініка дає можливість визначити показання до застосування препаратів, протипоказання і побічні ефекти, щоб надалі визначитися з об'ємом клінічних випробувань і самою можливістю їх проведення.

### **3. Вивчення загальнотоксичної дії.**

Вивчення загальнотоксичної дії дозволяє вирішити наступні завдання:

1. Визначити стерпні і токсичні дози фармакологічного речовини.
2. Виявити найбільш чутливі до досліджуваного фармакологічного речовині органи і системи організму, характер і ступінь патологічних змін в них, а також дослідити оборотність викликаються пошкоджень.
3. Вивчити залежність токсичних ефектів від дози і тривалості застосування фармакологічної речовини.

Відповідно цим завданням дослідження загальнотоксичної дії підрозділяється на два етапи:

1. Вивчення «гострої» токсичності фармакологічного "PWT" при одноразовому або дробовому введенні через короткі (не більше 3-6 годин) інтервали протягом доби.
  2. Вивчення «хронічної» токсичності при повторному тривалому введенні (тривалість введення визначається передбачуваним курсом клінічного застосування).
- Умови проведення експерименту Токсикологічні дослідження обов'язковими як для субстанції, так і для всіх лікарських форм фармакологічного речовини.

У тварин різних видів токсичність фармакологічних речовин може сильно відрізнятись, тому необхідно проводити дослідження на декількох видах тварин, причому поряд з гризунами обов'язково використовувати не гризунів. **З гризунів найбільш зручні для токсикологічних експериментів миші та щури. Можна застосовувати також кроликів, морських свинок, собак, а також міні-свиней і мавп. Іноді проводять експерименти на кішках, особливо при дослідженні гострої токсичності.**

Токсикологічні дослідження можна проводити як на нелінійних, так і на лінійних тварин. В останньому випадку слід вказати лінію (штам, лінія) тварин, оскільки чутливість до фармакологічному речовині може змінюватися і всередині виду залежно від лінії.

Експерименти проводять на тварин обох статей, враховуючи отримані дані окремо для самок і самців.

Слід вказати вік тварин, тому залежно від віку може змінитися фармакокінетика і, у зв'язку з цим, - токсичність фармакологічного речовини.

### **4. Фактори, що впливають на чутливість тварин до фармакологічних речовин.**

a. Вплив статі.

Статеві різниці у чутливості пов'язані зі специфікою будови, хімічного складу та напруги функціонування окремих систем організму, різної активності ензимів, особистістю метаболізму і структури гормональної регуляції обмінних процесів та іншими особливостями.

Наприклад: Статевозрілі самиці щурів значно більш стійкі до морфіну, солям свинцю, етиловому спирту. Самці більш резистентні до гексеналу, тіопенталу, нікотину, стрихніну.

b. Вплив віку. Ця проблема є змістом «вікової» фармакології, що систематизує знання про особливості реакції на фармакологічні речовини у післянатальному періоді до настання зрілості та у похилому віці. Велика варіабельність чутливості до фармакологічних речовин в залежності від віку підкреслює важливість експериментування на однорічних за віком групах тварин.

Наприклад: порогова доза норадреналіну при внутрішньовенному введенні старим кроликам складає  $34 \pm 3$  нг/кг, молодим тваринам –  $183 \pm 23$  нг/кг. У молодих мишей менша чутливість до адреналіну

c. Вплив генетичних факторів. Бажане використання певних ліній тварин, найбільш чутливих до досліджуємого класу сполук. Наприклад: у мишей лінії A/LN середня тривалість сну, що викликається гексабарбіталом ( $125$  мг/кг), майже у три рази перевищує таку у мишей лінії SWR/HeN ( $48 \pm 4$  хвилини та  $14 \pm 4$  хв. відповідно).

d. Вплив біоритму на ефект лікарських речовин. Суттєвий вплив на чутливість до лікарських речовин мають сезонні та добові (циркадні) коливання активності внутрішнього середовища організму. Для об'єктивного співставлення активності фармакологічних речовин важливе проведення досліджень в один й той же сезонний період. Ця обставина особливо суттєва при порівнянні даних, отриманих на різних групах тварин.

Добові біоритми також впливають на чутливість тварин до фармакологічних речовин. Відомі добові коливання мітотичної активності клітин печінки мишей, вмісту глікогену у печінці, рН внутрішнього середовища організму, артеріального тиску, гемоглобіну тощо (до 40 фізіологічних параметрів). Це вказує на можливість суттєвих зрушень й в реактивності на фармакологічні агенти.

e. Фактори зовнішнього середовища й реактивність до фармакологічних речовин. З постійно впливаючих факторів зовнішнього середовища найбільш помітний вплив на чутливість організму до фармакологічних засобів надають температура та рівень барометричного тиску.

Наприклад: при підвищенні температури навколишнього повітря токсичність строфантину різко зростає.

У зв'язку з освоєнням континентального шельфу та широкою програмою океанографічних досліджень, розвитком авіаційної та космічної медицини, застосуванням у клінічній практиці барокамер виникає питання впливу змін барометричного тиску на реактивність організмів до фармакологічних речовин.