

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ

Л.М.Рождественский

*ГНЦ Федеральный медицинский
биофизический центр им.
А.И.Бурназяна*

Кризис разработки ПЛС и пути преодоления.

1. Отсутствие новых противолучевых препаратов
последний, официально утвержденный – беталейкин (2003 г)
Снижение публикаций – лабораторий – перспективных проектов.
2. Выход - на путях открытия новых направлений исследования, подходов, ревизии старых представлений

На сегодняшний день можно отметить 3 перспективных проекта:

продвинутая разработка ингибитора NOs (Т-1023)

(МРНЦ им. А.Ф.Цыба, М.В.Филимонова)

продолжающаяся разработка Флагеллина

(ИОЧБ, СПб - А.С.Симбирцев в сотр. с Инст. экспериментальной
медицины, СПб и ФМБЦ им.А.И. Бурназяна)

продолжающееся исследование отдаленных последствий
низкомощностного пролонгированного γ -облучения

мышей и

поиск ПЛС, способных ослабить эти последствия

(ФМБЦ им. А.И.Бурназяна - В.Ф.Михайлов, А.Н.Осипов,
Л.М.Рождественский).

Сценарии возможного лучевого воздействия на человека, требующие фармакологической коррекции

	Защита	Лечение(раннее)
• <u>Аварийное, военное, террористическое:</u> • Производство • Хиросима	-	Беталейкин (номин)
• <u>Ожидаемое:</u> • <i>Космос</i> – редкоионизирующее, плотноионизирующее (<u>тяжелые ядра</u>), пролонгированное.	-	Энтолимод (номин)
• <u>Планируемое:</u> • <i>лучевая и химиотерапия:</i> • <i>солидных опухолей -</i>	?	
• <i>лейкозов (в т.ч. тотальное, низкомощн) -</i>	Беталейкин (!) Т-1023 (?)	
• <i>компьютерная томография (КТ):</i> • <i>детей -</i> • <i>взрослых –</i> • <i>лиц с нарушениями репарации ДНК -</i>	?	Беталейкин (!)
• <i>ремонтно-спасательные работы:</i> • <i>с высокой мощностью дозы</i> • <i>Чернобыль (КРТП) -</i>		
• <i>с низкой мощностью дозы (Фукусима) -</i>	Индралин (?)	
	Беталейкин (?)	
	Рибоксин (?)	

Действие радиации на систему окислительно-восстановит. гомеостаза и возможный способ повышения эффективности противолучевых средств (по работам: Бурлаковой, Михайлова, Мазурика-2001; Schmidt-Ulrich et al-2000; Zabbarova et Kanai-20010)

• **ИОНИЗИРУЮЩАЯ РАДИАЦИЯ**

– Сенсоры

- NADPH-оксидаза Плазм.
- P450 мембр.
- Липиды Эндопл.
- Рецепторы ретикул
- Электрон-трансп.
- цепочка **Митохондрии**

• **АФК/ АФ"NO"**

- как усилители
- проведения сигнала

• **Проводящая сигнал система**

• **МИШЕНИ**

- ДНК
- АТМ
- P53

Противолуч. средства

- Амифостин
- СОД
- СОД-миметик
- Витамины А,С,Е
- Мелатонин
- Ингибиторы
- NO-синтазы
- Противовосп
- Иммуномодуля-
торы

Методы доставки в митохондрии

- Белки с N-термин.
- специф. послед.
- Аденовирус
- SS-пептиды
- XJB-пептиды
- Катионы

Поиск противолучевых средств (ПЛС), способных ослабить отдаленные последствия облучения

**Исследования на модели НМПО:
низкомощностного (10 мГр/мин) пролонгированного (22 ч)
γ- облучения мышей в большой дозе (12,6 Гр)**

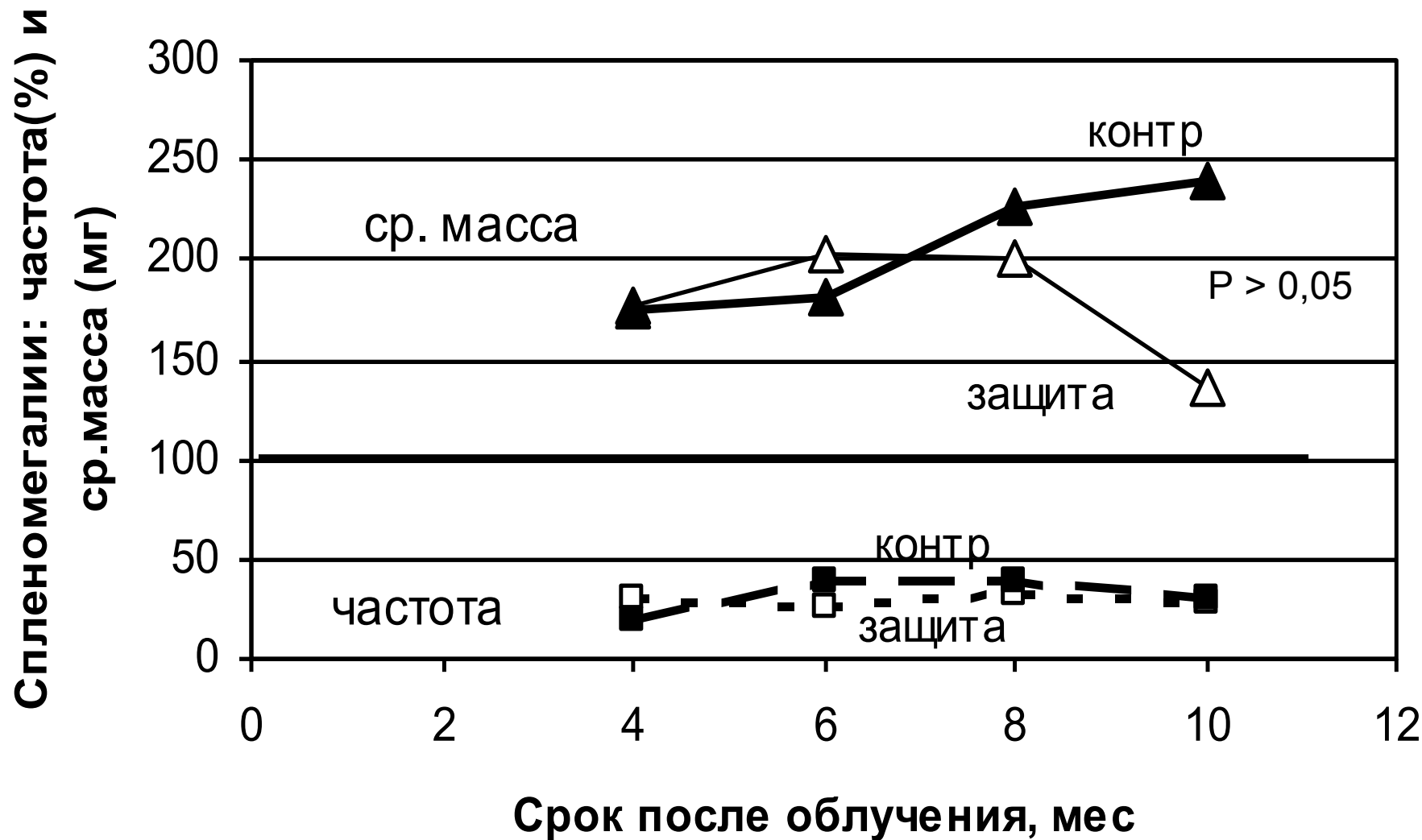
Профилактическое введение:

цитокина иммуномодулятора рч беталейкина
(50 мкг/кг за 2 ч или 3 мкг/кг за 22 ч)

экзогенного иммуномодулятора флагеллина (200 мкг/кг за 0,5 ч)

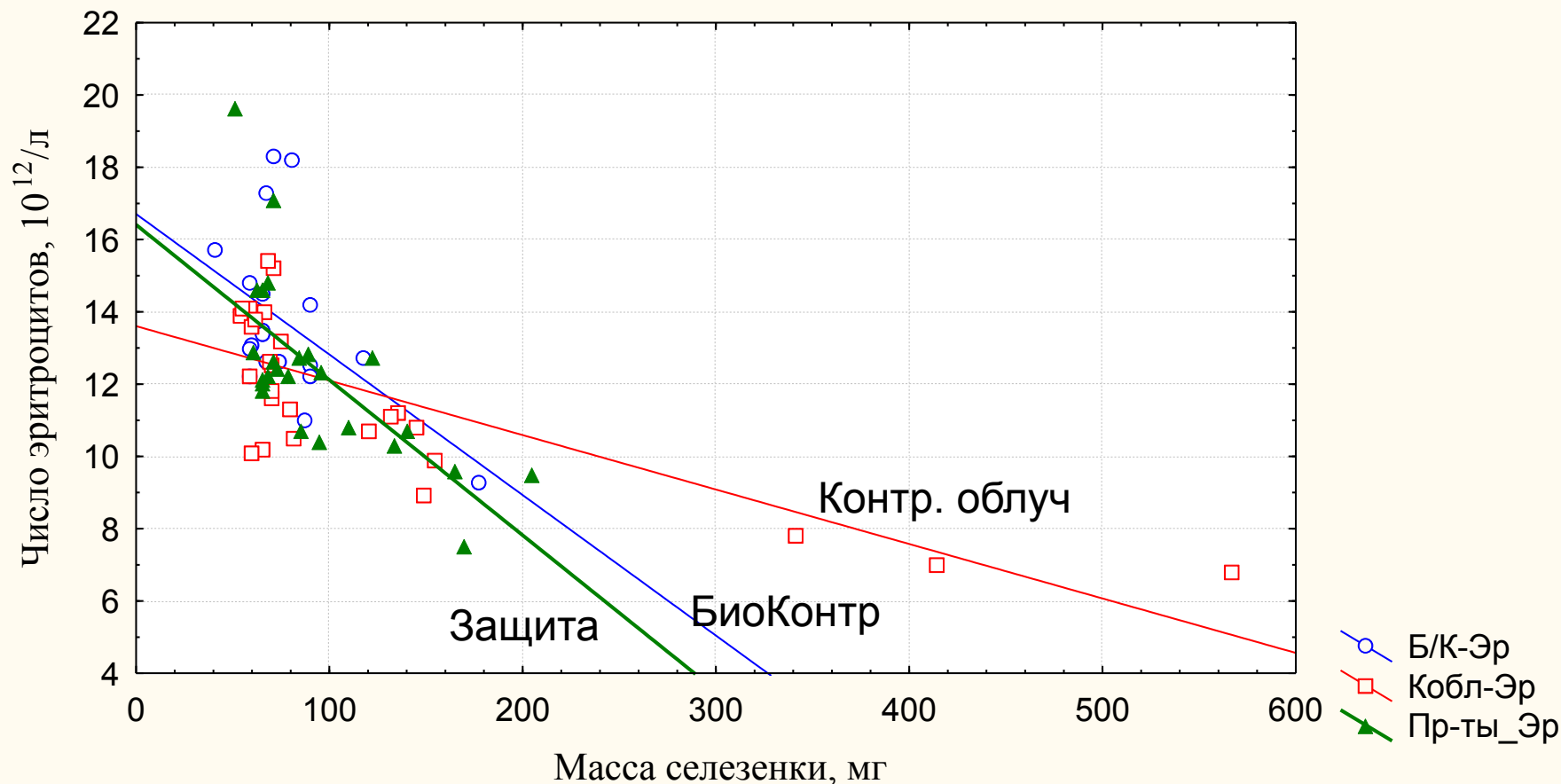
нуклеозида рибоксина (300 мг/кг за 0,5 ч)

Феномен спленомегалии

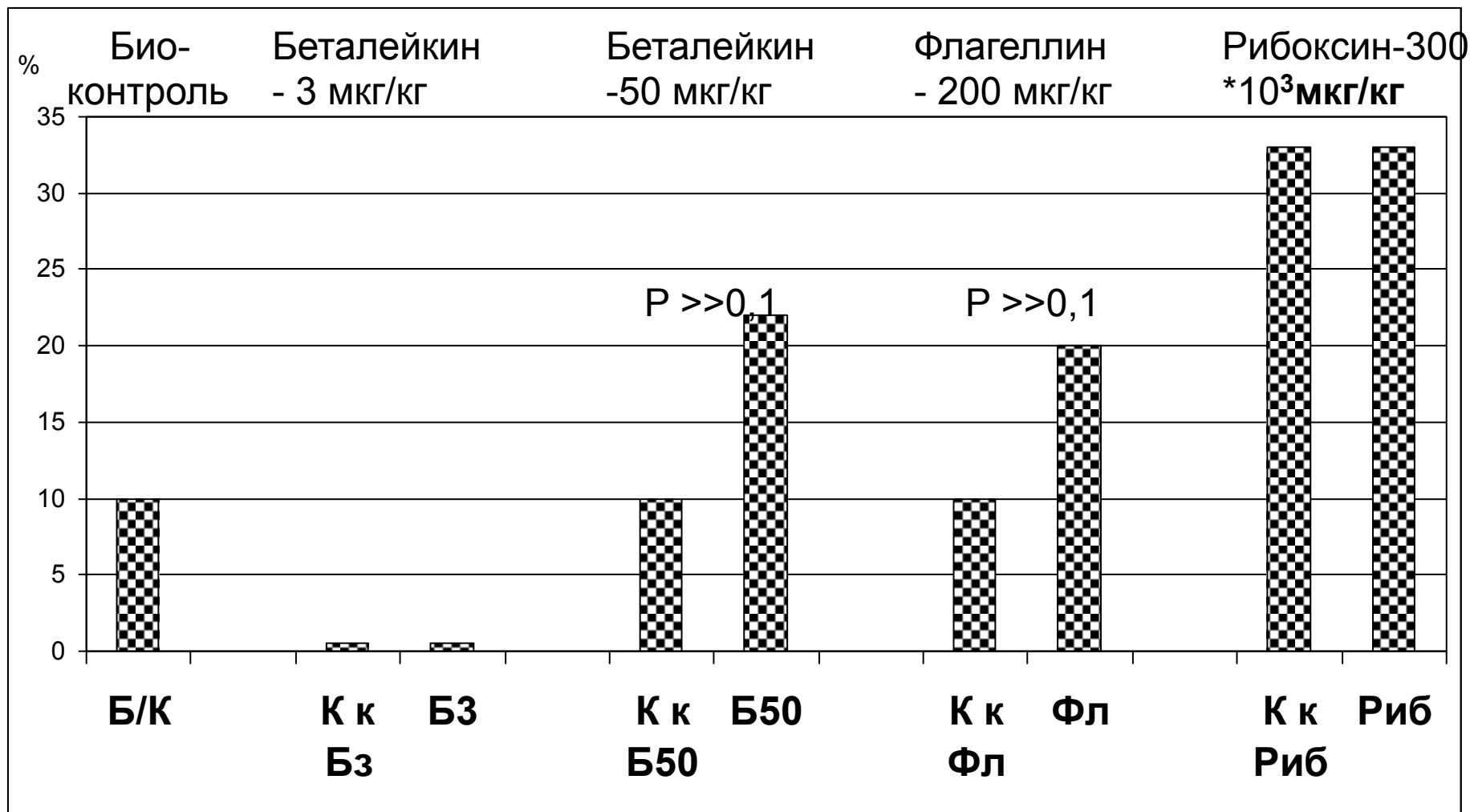


Регрессия числа эритроцитов по массе селезенки у
контрольных и защищенных групп мышей через 10 мес
после γ -облучения в дозе 12,6 Гр (10 мГр/мин)

Б/К-Эр: $r = -0,49$, $p = 0,03$; $y = 16,7 - 0,039 \cdot x$
Кобл-Эр: $r = -0,78$, $p = 0,0000008$; $y = 13,6 - 0,015 \cdot x$
Пр-ты_Эр: $r = -0,69$, $p = 0,0001$; $y = 16,4 - 0,043 \cdot x$



Частота выхода опухолей в разных группах через 10 мес после облучения мышей в дозе 12,6 Гр (10 мГр/мин)



Корреляция между выходом спленомегалий и злокачественных лимфобластом через 10 мес после облучения мышей в дозе 12,6 Гр при м.д. 10 мГр/мин

	Мегасплин	Нормальная Селезенка	
	n	n	Σ
Опухоль	8	3	11
Нет опухоли	10	53	63
Σ	18	56	74

По точному 2-стороннему критерию Фишера $P = 3 \cdot 10^{-4}$

Проблемы продвижения ПЛС до статуса медицинского препарата

1. проблемы с проведением 2-3 стадий клинических испытаний,
2. проблемы проведения опытов на крупных лабораторных животных,
3. вопросы, связанные с нормативным законодательством

Нормативно-правовая база по доклиническому исследованию новых фармакологических веществ

- ФЗ № 61 от 12.04.2010
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, несколько выпусков.
- ОРИГИНАТОР «Впервые в мире»
«Впервые в РФ»
- ГЕНЕРИК
- NEW- ГЕНЕРИК
 - Новая комбинация зарегистрированных МЕН в РФ
 - Незарегистрированная доза
 - Незарегистрированная лекарственная форма
 - Иной путь введения
- Согласно ФЗ-61 по формальному признаку все new-генерики рассматриваются как оригинальные ЛС. ФЗ-61 не определяет подходы к выбору объема доклинических исследований. Требуются «План доклинического исследований» и «Протокол доклинического исследования»

4 фазы клинических испытаний

- 1 - изучение на 20-50 здоровых или больных (в зависимости от особенностей препарата и его безопасности) ф-кокинетики, ф-динамики и если возможно, то переносимости, эффективности и безопасности;
- 2 - на 60-300 больных с изучением ф-кокинетики, ф-динамики, ОПРЕДЕЛЕНИЕМ ЭФФЕКТИВНЫХ И БЕЗОПАСНЫХ ДОЗ;
- 3 -рандомизируемые контролируемые испытания на 250-1000 больных и более - ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВ-НОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА (тирулог, лозартан) в диапазоне предлагаемых доз в сравнении с др. ЛС.

Методические указания по экспериментальному и клиническому изучению средств терапии радиационных поражений и медико-биологические требования к этим средствам. Москва – 1978

....изучают на 3-х видах лабораторных животных, в том числе обязательно на одном виде крупных животных (собаки, обезьяны, свиньи)

Методические указания по доклиническому изучению радиопротекторных свойств (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва - 2000)

В экспериментах не менее чем на трех видах животных в том числе обязательно на одном из крупных (собаки, обезьяны, свиньи) изучают радиозащитную эффективность исследуемых соединений.

Проблема определения эффективных доз ПЛС для человека

- 1. Экстраполяция с экспериментальных животных на человека

3 вида лабораторных животных, включая крупный (собака, обезьяна)

Расчет на единицу поверхности тела

- 2. Индикационный подход по индикатору/маркеру повышенной радиорезистентности

Индикация/оценка повышенной радиорезистентности организма

Индикатор	Для какого ПЛС	Авторы	Применение на человеке	Информативность
Гипокситензия (ΔpO_2)	Индралин	Л.М.Рождественский	+	+ Специфичность 93% Чувствительность 98%
Δ МХ СДГ лимфоцитов	Индралин	М.В.Васин	+/-	?
Снижение ox/red (ΔOVP , ΔSH)	Цистамин, аминотиолы	В.Г.Владимиров Л.М.Рождественский	+/-	?
Трансферрин, церулоплазмин, СОД, глутатион-S-трансфераза крови. АОА плазмы крови	Индометофен и любые другие РП	Л.К.Пулатова В.Л.Шарыгин	+	?
РНК/ДНК крови, экс. оксидантный потенц. лейкоцитов крови	Индометофен	В.К.Мазурик В.Ф.Михайлов	+	?
<i>Модель: «Бл in vivo – облучение крови in vitro»</i>	<i>Беталейкин</i>	А.Н.Гребенюк А.А.Тимошевский	+	?

Оценка информативности индикатора/маркера повышенной радиорезистентности (ИПР/МПР)

	Защитный эффект есть (+)	Защитного эффекта нет (-)	
Индикатор показывает изменение (+)	N1 (+/+)	N2 (+/-)	N1 + N2 (общее число изменения индикатора)
Индикатор не показывает изменения (-)	N3 (-/+)	N4 (-/-)	
	N1 + N3 (общее число случаев защиты)		N=N1+N2+N3+N4 (общее число объектов исследования)

$N1/(N1+N2)$ – отражает степень завышения оценки повышения резистентности (достоверность/специфичность индикатора),
 $N1/(N1+N3)$ – отражает степень занижения оценки повышения резистентности (значимость/чувствительность индикатора),
 $N1+N4/N$ – отражает долю правильных оценок (информативность индикатора).
 (Аналогично оценке информативности онкомаркеров)

Бинарная классификация противолучевых средств

Группы ПЛС Струк- туры вза- имодействия	Оксидомодуляторы							Цитомодуляторы					
	Редук- танты	Гипоксанты		Антиоксиданты				Иммуномодуляторы			Стимуляторы		
		произв. тиомо- чевины	биоген- ные амины	фер- менты	син- тети- ческие	нитр- оксиды	фла- воно- иды	эндогенные		экзогенные (компоненты микробов)	стеро- иды	вита- мины	производ. аденина
								цито- кины	рост. ф-ры				
Радикалы воды и АФК	Тиолы			СОД ¹	Ионол	Тет- рол ²	Мела- нины						Рибок- син
Смешанные дисульфиды	МЭА и произв Амифос- тин. АЭТ												
Синтаза NO		Дифетур T-1023 ³											
Р сцепленные с G-белком: адрено (α, β), серотонино, аденозиновые			Индра- лин 5-OT ⁴ 5-MOT ⁵										Рибоксин ИМФ ⁶
Р с тирозинки- назой акт.: цитокинов и ростовых ф-в								Бл, ТПО, ИЛ-6, ИЛ-3 ФСК, ТНФ и др	Г-КСФ ЕФР ФРФ				
Р внутри- клеточные: вит. А и Е, стероидов											5-АЕД ⁷ Эстра- диол	ДТ-3 ⁸	
Толл-подоб- ные Р (ТПР)										CBLB502 ⁹ Проди- гиозан			
Индикатор повыш РР	ОВП	Δ pO2	Δ NO					Δ Г-КСФ		Δ Г-КСФ Δ ИЛ-6			

Проблема продвижения противолучевых средств в медицинскую практику

(выявление их свойств препаратов двойного назначения)

Успешное продвижение ПЛС в медицинскую практику возможно лишь при условии создания устойчивой технологической цепочки:

производитель/разработчик -

- исследователь/экспериментатор -
- испытатель/клиницист (!).

Необходима разработка новых методических указаний по доклиническому исследованию новых ПЛС с исключением требования об обязательности исследований с облучением крупных лабораторных животных и акцентировании индикационного подхода по выявлению индикатора/маркера повышенной исследуемым препаратом радиорезистентности (ИПР/МПР) организма/критической радиочувствительной ткани. ИПР/МПР должны использоваться в опытах на крупных лабораторных животных и в клинических испытаниях.