

УДК 615.015:57.084

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-2-145-154>

Научно-методическая статья | Scientific methodology article



Выбор высокой дозы для изучения общетоксического действия новых лекарственных средств

Г.Н. Енгальчева[✉], Р.Д. Сюбаев

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Контактное лицо: Енгальчева Галина Нинелевна engalycheva@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

Выбор высокой дозы является ключевым элементом методологии изучения общетоксического действия лекарственных средств, от которого зависят информативность результатов, соблюдение принципов этического рационального использования экспериментальных животных и корректность прогноза безопасности применения нового лекарственного средства у человека. Согласно данным литературы и опыту экспертной оценки результатов доклинических исследований, неправильный выбор высокой дозы является весьма распространенной ошибкой планирования токсикологических исследований, которая значительно сокращает или полностью лишает их информативности и не позволяет использовать для оценки безопасности применения нового лекарственного средства у человека.

Цель работы: анализ актуальных регуляторных требований по выбору высокой дозы для исследований общетоксического действия лекарственных средств.

Проведенный анализ позволил предположить, что возможной причиной необоснованного выбора высокой дозы в токсикологических исследованиях является неоднозначность интерпретации методических рекомендаций в случае отсутствия в них конкретного указания на нормирование предела верхней границы исследуемых токсических доз или достаточной определенности критериев выбора дозы. Соблюдение требований регуляторной токсикологии в отношении выбора доз и применение обоснованного алгоритма принятия решений являются необходимыми условиями корректного планирования доклинических исследований безопасности новых лекарственных средств.

Ключевые слова: доклинические исследования; выбор высокой дозы; безопасность лекарственных средств; общетоксическое действие

Для цитирования: Енгальчева Г.Н., Сюбаев Р.Д. Выбор высокой дозы для изучения общетоксического действия новых лекарственных средств. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(2):145–154. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-2-145-154>

High Dose Selection for General Toxicity Studies of New Medicines

G.N. Engalycheva[✉], R.D. Syubaev

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Corresponding author: **Galina N. Engalycheva** engalycheva@expmed.ru

ABSTRACT

High dose selection is a key methodological element in general toxicity studies of medicines. It determines the informative value of study results, the compliance with the principles of ethical and rational use of experimental animals, and the accuracy of predicting the safety of new medicines for human use. The literature data and the regulatory experience in evaluating preclinical study results suggest that the selection of an inappropriate high dose is a very common error in planning toxicity studies. This error leads to a significant or complete loss of the informative value of study results; the results become useless for assessing the safety of new medicinal products for human use.

The aim of this study was to analyse the current regulatory requirements for high dose selection for general toxicity studies of medicines.

The analysis suggests that unreasonably high doses may be selected for toxicity studies because methodological recommendations are prone to interpretation errors. Their potential for ambiguity stems from the absence of specific standardised upper limits for toxic doses or sufficiently clear dose selection criteria. Prerequisites for properly planning preclinical safety studies of new medicines include compliance with dose selection requirements of regulatory toxicology and implementation of a clinically and toxicologically sound decision-making algorithm.

Key words: preclinical studies; high dose selection; drug safety; general toxicity

For citation: Engalycheva G.N., Syubaev R.D. High dose selection for general toxicity studies of new medicines. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023;11(2):145–154. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-2-145-154>

Введение

Одним из ключевых элементов методологии доклинических исследований безопасности лекарственных средств (ЛС) является выбор высокой дозы (ВД) для исследований общей токсичности¹, от которого зависит корректность и информативность полученных результатов и, в конечном счете, корректность прогноза безопасности для первого применения ЛС у человека. Несмотря на кажущийся рутинный характер выбора доз, неправильно подобранная доза часто является причиной проведения бесполезных неэтичных или избыточных исследований, возникновения проблем при определении диапазона безопасных доз и оценке потенциальных токсических эффектов.

Оценка безопасности нового лекарственного средства-кандидата — это итеративный динамический процесс с непрерывной обратной связью между доклиническими и клиническими исследо-

ваниями. Первоначальная доклиническая оценка безопасности ЛС дополняется доклиническими и клиническими данными, а оценка безопасности ЛС для человека становится более взвешенной в ходе клинической разработки [1, 2].

Подходы к определению величины эквивалентной дозы для человека подробно обсуждаются в статье Е.В. Шекуновой и соавт. [3]. Однако, прежде чем приступить к экстраполяции полученных токсических и нетоксических доз от животных на человека, необходима уверенность, что проведенные исследования являлись достаточными для выявления токсических эффектов ЛС.

Цель работы — анализ регуляторных требований по выбору высокой дозы для исследований общетоксического действия лекарственных средств.

В настоящей статье рассмотрены методические рекомендации, относящиеся к разработке новых ЛС, представляющих собой малые

¹ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

молекулы, поскольку методология доклинических исследований высокомолекулярных соединений, вследствие специфичности их биологических свойств и фармакологического действия, требует иных подходов и применения специальных рекомендаций. Актуальность обсуждаемого вопроса подтверждает опыт экспертизы доклинических исследований безопасности ЛС, проводимой в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, а также научные публикации [1, 4].

Основная часть

В соответствии с регуляторными требованиями и методическими рекомендациями² стандартные доклинические исследования безопасности ЛС проводятся *in vivo* в сочетании с исследованиями токсикокинетики или *in vitro* и включают исследования фармакологической безопасности, общетоксического действия при однократном и повторном введении, генотоксичности, канцерогенности, репродуктивной токсичности, местной переносимости, а также специфические исследования, выполняемые при необходимости (иммунотоксичность, иммуногенность, фототоксичность, гематологическая совместимость, общетоксическое действие на неполовозрелых животных и др.). Доклинические исследования безопасности (токсикологические исследования и исследования фармакологической безопасности) проводятся строго в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practice, GLP) для гарантированного обеспечения максимальной достоверности и воспроизводимости результатов. Целью исследований токсичности при повторном введении является выявление токсического влияния ЛС на органы-мишени, зависимости «доза–эффект», обратимости эффектов, связи токсических эффектов с системной экспозицией.

Исследования общетоксического действия в сочетании с исследованиями токсикокинетики являются базовыми, по результатам которых оценивают безопасность первого применения ЛС у человека. Эти исследования позволяют оценить потенциальные мишени токсического действия нового ЛС для клинического мониторинга потенциальных нежелательных явлений,

характер и динамику токсических эффектов, уровень токсических доз, диапазон нетоксических доз, определить безопасную стартовую дозу для первого применения ЛС у человека³.

Спектр биологических реакций, охватывающий ряд возрастающих доз, показан на *рисунке 1* [5]. Для выбора ВД используют диапазон, включающий дозы, оказывающие минимальное (Lowest Observed Effect Level, LOEL), умеренное (Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL) или выраженное токсическое действие (Frank Effect Level, FEL). Основные принципы токсикологии указывают на то, что выбранная доза в краткосрочных токсикологических исследованиях должна быть выше, чем в долгосрочных исследованиях [1, 2]. Вместе с тем по мере накопления информации о переносимости ЛС и клинического подтверждения его перспективности становится оправданным повышение ВД малотоксичных ЛС до уровня максимальной переносимой (МПД; maximum tolerable dose, MTD) или максимальной достижимой дозы (МДД; maximum feasible dose, MFD). В этом случае использование допустимого максимального уровня ВД не рассматривается как избыточное и, напротив, свидетельствует о полноценности доклинической характеристики безопасности нового ЛС.

Общие токсические свойства изучают при однократном и повторных введениях. В исследованиях острой токсичности получают токсикометрические параметры летальных (LD_{50}) и максимальных переносимых доз (МПД), устанавливают причины гибели животных и оценивают характер и динамику симптомов интоксикации.

В методических документах содержатся вполне определенные практические рекомендации по планированию исследований общетоксического действия, которые, как правило, исключают их неверную интерпретацию. Так, например, в Руководстве по проведению доклинических исследований ЛС⁴ в разделе по исследованиям острой токсичности указано, что для малотоксичных веществ, при невозможности определения LD_{50} , максимальная используемая доза должна составлять не менее 2 г/кг. В соответствии с современными методическими подходами проведение отдельных

² Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 78 «О правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

³ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

⁴ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012.

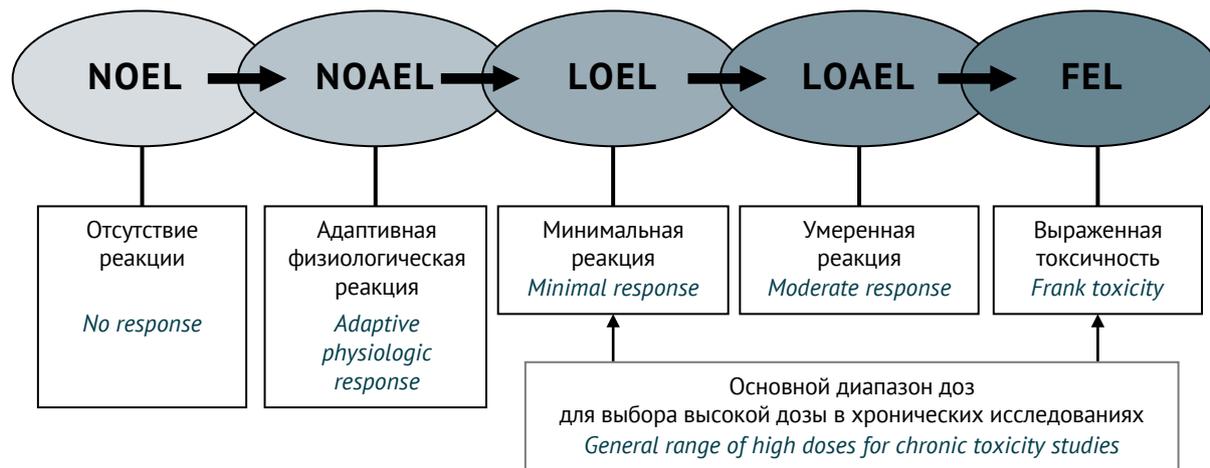


Рис. 1. Спектр ответа в неклинических исследованиях (по R.J. Kociba [5], с изменениями). NOEL – уровень доз отсутствия каких-либо наблюдаемых эффектов; NOAEL – уровень доз отсутствия наблюдаемых токсических эффектов; LOEL – уровень доз незначительных наблюдаемых токсических эффектов; LOAEL – уровень доз умеренных наблюдаемых токсических эффектов; FEL – уровень доз выраженных наблюдаемых токсических эффектов

Fig. 1. Range of responses in non-clinical studies (adapted from R.J. Kociba [5]). NOEL, No Observed Effect Level; NOAEL, No Observed Adverse Effect Level; LOEL, Low Observed Effect Level; LOAEL, Low Observed Adverse Effect Level; FEL, Frank Effect Level

исследований токсичности при однократном применении не является строго необходимым, а сведения о дозопонижающей токсичности при краткосрочном введении препарата могут быть получены из исследований токсичности при повторном введении или из исследований фармакодинамики, фармакокинетики или токсикокинетики⁵. Исследования острой токсичности, как правило, предоставляются к III фазе клинических исследований или раньше в случаях повышенного риска передозировки (если препарат разрабатывается для терапии боли, депрессии). Вместе с тем можно отметить меньшую определенность рекомендаций по выбору ВД для исследований хронической токсичности, которая может стать причиной неоднозначности их интерпретации. Так, например, в руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств указано что «введение максимальной дозы предполагает выявление возможных токсических эффектов или гибель части животных. Эта доза может быть определена из данных по острой токсичности. Минимальная доза должна быть близка к терапевтической дозе, рекомендуемой для клинического изучения, с учетом соответствующих коэффициентов. Третья доза является промежуточной»⁶.

Подобная оптимизация с целью получения максимальной пользы от исследований с меньшими затратами отражает общую тенденцию современной эволюции доклинических исследований и является одним из многочисленных примеров реализации концепции 3R (замена, сокращение, улучшение – Replacement, Reduction, Refinement) по рациональному этичному использованию экспериментальных животных.

Выбор ВД является весьма сложной задачей, поскольку требует соблюдения баланса между необходимостью максимального сохранения спектра потенциальных токсических эффектов и обеспечением выживаемости экспериментальных животных. Как показывает практика, в ходе проведения исследований хронической токсичности нередко требуется дополнительная корректировка ВД, чаще в сторону их снижения, вследствие избыточной токсичности и гибели животных. Примеры рекомендаций, которые могут иметь неоднозначную интерпретацию, представлены в *таблице 1*. Приведенные цитаты рекомендаций демонстрируют применение для выбора ВД критерия умеренной или минимальной ее токсичности. Подобный, кажущийся парадоксальным, подход, по-видимому, может оказаться одной из причин заниженного уровня ВД, которая

⁵ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

⁶ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.

Таблица 1. Нормативные положения, касающиеся выбора высоких доз в исследованиях токсичности (цит. по L.A. Buckley и соавт. [2])**Table 1.** Regulatory positions regarding high dose selection in toxicity studies (from L.A. Buckley et al. [2])

Нормативный документ <i>Regulatory document</i>	Формулировка рекомендации, касающаяся выбора высоких доз <i>Recommendations on high dose selection quoted from the document</i>
ICH S1C (R2). Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals. EMEA/CHMP/ICH/383/1995. EMA; 2008	Прогнозируемый минимальный токсический эффект в исследованиях хронической токсичности ... может быть оценен в 90-дневном исследовании подбора доз, в котором наблюдается минимальная токсичность, включающая снижение прироста массы тела $\leq 10\%$ по сравнению с контролем; токсичность для органов-мишеней; признаки клинической патологии. Максимальные дозы для исследований общей токсичности определяются по границам экспозиции или предельным дозам <i>Predicted to produce a minimum toxic effect over the course of the toxicity study ... may be predicted from a 90-day range-finding study in which minimal toxicity is observed ... factors to consider include: $\leq 10\%$ decrease in body weight gain relative to controls; target organ toxicity; significant alterations in clinical pathology. Maximum doses for general toxicity studies may be based on margins of exposure or limit doses</i>
Chemical carcinogens: a review of the science and its associated principles. U.S. Interagency Staff Group on Carcinogens. <i>Environ Health Perspect.</i> 1986;67:201–82	Наивысшая доза в исследовании хронической токсичности, достаточная для того, чтобы вызвать признаки минимальной токсичности без существенного изменения нормальной продолжительности жизни из-за эффектов, отличных от канцерогенности. Определяется в 90-дневном исследовании. При этом учитывают изменение массы тела и органов, клиническую патологию и наиболее отчетливые токсические, патологические или гистопатологические конечные точки <i>Highest dose in chronic study just high enough to elicit signs of minimal toxicity without significantly altering normal lifespan due to effects other than carcinogenicity. Determined in a 90-day study. Considers alteration in body and organ weight, clinical pathology and more definitive toxic, pathologic or histopathologic endpoints</i>
Toxicity test guideline for pharmaceuticals. Pp. 127 (Chapter 5). Japan Ministry of Health and Welfare; 1985	Наивысшей дозой для основного исследования канцерогенности является доза, которая в предварительном исследовании канцерогенности тормозит прирост массы тела не более чем на 10% и не вызывает ни летального исхода из-за токсических эффектов, ни заметных изменений общего состояния или лабораторных показателей <i>The dose in the preliminary carcinogenicity study that inhibits body weight gain $\leq 10\%$ and causes neither death due to toxic effects nor remarkable changes in the general signs or laboratory findings is the highest dose to be used in the full-scale carcinogenicity study</i>
Guideline on repeated dose toxicity. CPMP/SWP/1042/99. EMA; 2010	Высокая доза должна позволять идентифицировать токсичность для органов-мишеней или другую неспецифическую токсичность или соответствовать максимальной достижимой дозе. ... В идеале системная экспозиция препарата и/или основных метаболитов должна многократно превышать ожидаемую клиническую системную экспозицию. ... Корректировка дозы необходима при чрезмерной токсичности или отсутствии токсических эффектов <i>Should enable identification of target organ toxicity or other non-specific toxicity, or until limited by volume of dose ... Ideally, systemic exposure to the drug and/or principal metabolites should be a significant multiple of the anticipated clinical systemic exposure ... Need for adjustment if unexpected toxicity or lack thereof</i>
Rules governing medicinal products in the European Community. Vol. III. CHMP; 1987	Максимальная доза должна вызывать минимальный токсический эффект, например потерю веса на 10% или замедление роста или минимальную токсичность для органов-мишеней, ... о чем свидетельствует нарушение физиологических функций и, в конечном счете, патологические изменения <i>The top dose should produce a minimum toxic effect, for example a 10% weight loss or failure of growth, or minimal target organ toxicity ... as demonstrated by failure of physiologic functions and ultimately by pathological changes</i>

не дает полного представления о спектре потенциальных токсических эффектов ЛС.

Рекомендуемый алгоритм выбора ВД (рис. 2) предусматривает 4 случая признания дозы в качестве высокой: если она соответствует МПД, МДД, дозе, обеспечивающей насыщение экспозиции или превышает клиническую экспозицию в 50 и более раз⁷. Если не выполняются эти условия, применяются варианты других решений с использованием критериев

соотношения доз и экспозиции ЛС у человека и экспериментальных животных. В качестве достаточной ВД в исследованиях хронической токсичности при прочих равных условиях принимается доза 1000 мг/кг массы тела животного, обеспечивающая не менее чем 10-кратную клиническую экспозицию. Если не удастся достичь целевой экспозиции у животных, ВД может быть увеличена до 2000 мг/кг и более, вплоть до МДД.

⁷ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

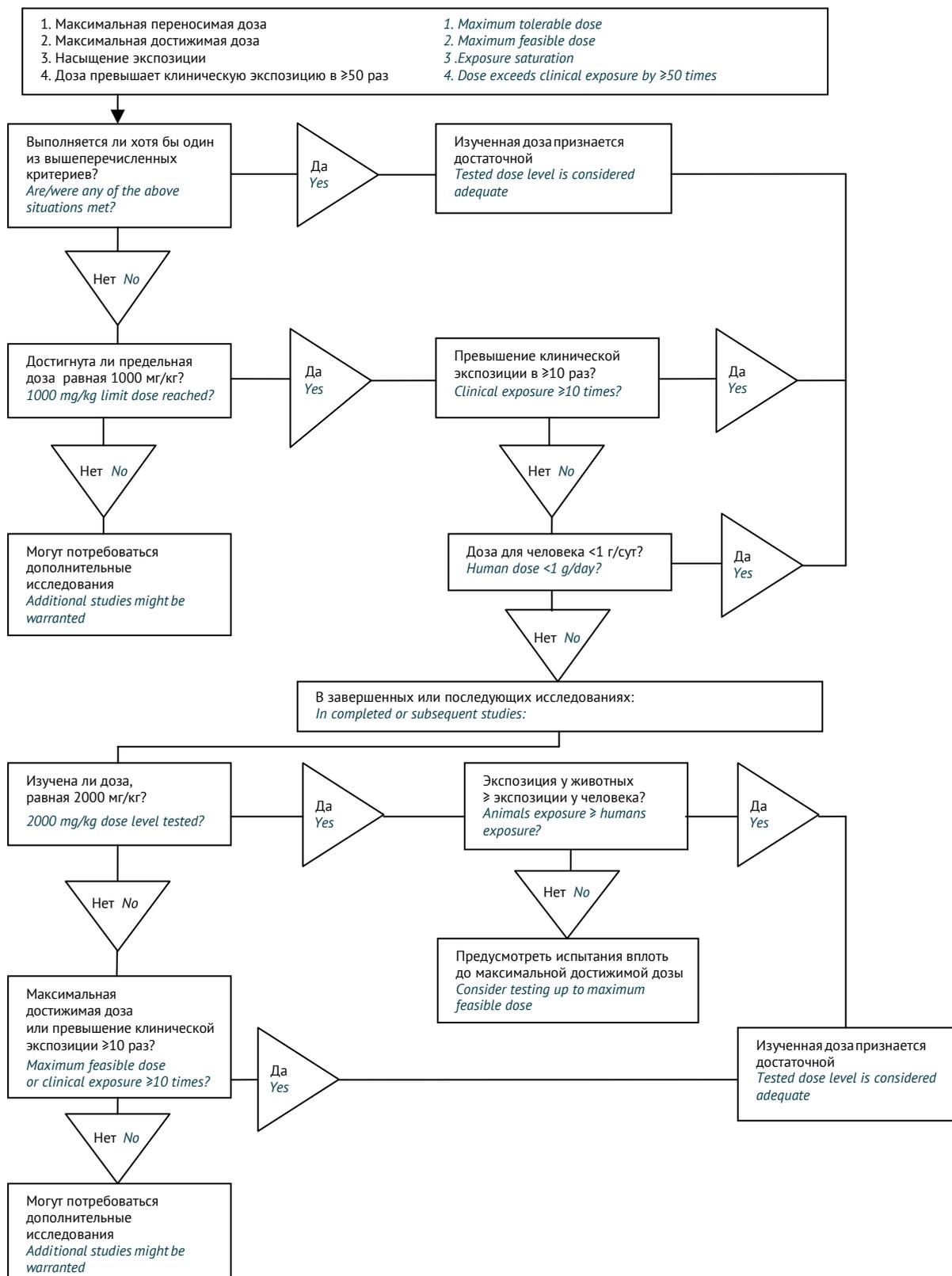


Рис. 2. Схема выбора высокой дозы для исследований общей токсичности

Fig. 2. Recommended high dose selection for general toxicity studies

Согласно руководству Евразийской экономической комиссии⁸, для обоснования проведения клинических исследований III фазы необходимо, как правило, определить дозопредельную токсичность в экспериментах с предельной дозой, обеспечивающей 50-кратное превышение экспозиции, с использованием как минимум одного вида животных. В руководстве⁹ МПД определена как самая ВД, которая будет переносима в течение всего периода исследования. Безусловно, длительность эксперимента может оказывать влияние на величину МПД. Так, однократное введение препарата возможно в более высоких дозах, чем при повторном введении в исследованиях субхронической и хронической токсичности. Согласно исследованию L.A. Buckley и соавт. [2], подходы к выбору дозы для доклинических исследований безопасности фармацевтических препаратов должны учитывать необходимость демонстрации всего диапазона зависимости «доза–эффект», соотноситься с терапевтическими дозами для человека, а также учитывать клинические показания и фазу клинического исследования.

Согласно руководству¹⁰, ВД должна обеспечить идентификацию токсичности для органов-мишеней или другой неспецифической токсичности или ограничиваться максимально возможным объемом введения.

Одним из критериев «достаточности» дозы является использование в эксперименте на животных МДД¹¹. Предельные дозы для исследований острой, субхронической и хронической токсичности в размере 1000 мг/кг/сут для грызунов и негрызунов считаются достаточными в большинстве случаев, за исключением случаев низкой экспозиции препарата у животных по данным токсикокинетики. Согласно руководству ЕМА¹², при применении ВД экспозиция ЛС и (или) основных метаболитов должно значительно превышать ожидаемую системную экспозицию у человека. Промежуточная доза может определяться как среднее геометрическое значение между высокой и низкой дозой.

В процессе доклинического изучения безопасности может потребоваться коррекция уровня доз при возникновении неожиданных токсических реакций или, наоборот, при отсутствии токсических эффектов.

Крайне важной является корректность дозирования ЛС у животных в исследованиях токсичности. Экспериментальные лекарственные формы, используемые в доклинических исследованиях, должны обеспечивать биодоступность, достаточный диапазон и точность дозирования действующего вещества, его стабильность и однородность распределения в препарате. Тестируемое ЛС, как правило, вводят в виде смеси, рецептура которой может варьировать от простых растворов или суспензий до сложных систем доставки. Для достижения ВД, соответствующей международным нормативным требованиям, часто необходимо использовать рецептуру, содержащую высокую концентрацию действующего вещества. При этом, в зависимости от класса ЛС и относительного уровня его экспозиции у человека и животных, ВД может достигать 1000 или 2000 мг/кг/сут¹³.

Для разных способов введения и разных видов животных определены допустимые максимальные объемы введения, поэтому этот фактор также может вызвать необходимость использования экспериментальной лекарственной формы с повышенным содержанием действующего вещества [6]. Как показывает опыт экспертизы доклинических исследований, разработчики достаточно часто уже на самых ранних этапах в токсикологических исследованиях используют лекарственную форму, предназначенную для клинического применения, вместо экспериментальных лекарственных форм. Однако низкая дозировка действующего вещества или большое количество вспомогательных веществ в клинической лекарственной форме могут препятствовать достижению уровня дозы, достаточного для проявления токсического действия у животных. Как следствие, при использовании лекарственной формы, предназначенной для клинического применения, не всегда

⁸ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

⁹ Guidance on dose level selection for regulatory general toxicology studies for pharmaceuticals. London: LASA/NC3Rs; 2009.

¹⁰ Guideline on repeated dose toxicity. CPMP/SWP/1042/99. Rev 1 Corr*. EMA; 2010.

¹¹ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

¹² Guideline on repeated dose toxicity. CPMP/SWP/1042/99. Rev 1 Corr*. EMA; 2010.

¹³ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals. EMA/CPMP/ICH/286/1995. EMA; 2009.

удаётся в полной мере охарактеризовать токсикологический профиль препарата.

В исследовании L.A. Buckley и соавт. [2] авторы отмечают, что остается дискуссионным вопрос о корректности интерпретации токсикологических данных и оценке пользы и риска применения препарата у человека в случаях, когда часть нежелательных эффектов обусловлена чрезмерным фармакологическим действием, которое превышает адаптационные возможности организма; в качестве примера приводят дозозависимый гипогликемический эффект инсулина. Кроме того, при оценке дозозависимости токсических эффектов предполагается, что вероятность их появления связана с увеличением дозы выше терапевтического диапазона, однако следует иметь в виду, что некоторые ЛС не вызывают токсических эффектов даже в 100-кратных клинических дозах. В таких случаях дозы, использованные в доклинических исследованиях, могут оказаться необоснованными с точки зрения клинической значимости. Если в ходе токсикологического эксперимента не удастся вызвать токсические эффекты, может встать вопрос о релевантности выбора вида экспериментальных животных. Данная проблема может быть решена проведением токсикокинетических исследований, которые должны подтвердить достаточный уровень системной экспозиции препарата у животных¹⁴.

При выборе ВД следует представлять структуру системы доклинических исследований в целом. Доклинические исследования представляют собой комплексную систему взаимосвязанных элементов, которая включает общие методологические подходы, стандартные экспериментальные методы и критерии оценки фармакодинамики, фармакокинетики и токсичности ЛС на тест-системах *in vitro*, *in vivo* и *in silico*, а также требования и нормативы, предъявляемые к организации и проведению исследований и оформлению их результатов. Доклинические исследования безопасности нового ЛС представляют условно обособленную часть общей системы, включающую полный комплекс исследований фармакологической и токсикологической безопасности нового фармакологически активного вещества-кандидата, результаты которой используют для прогнозирования риска первого применения ЛС у человека.

Уникальность роли выбора ВД заключается в наиболее полном выявлении спектра

потенциальных токсических эффектов и органов-мишеней токсического действия нового ЛС. Вместе с тем не менее важное значение для оценки безопасности нового ЛС имеет выбор низкой дозы и всего диапазона исследуемых доз для наиболее обоснованного определения уровня нетоксической дозы, не вызывающей нежелательных эффектов (NOAEL) или минимальной токсической дозы (LOEL), которые используются для вычисления безопасной стартовой дозы для первого применения ЛС у человека (рис. 1). Правильный выбор и своевременная корректировка диапазона доз базируется на результатах предварительных (оценочных) исследований по подбору доз. Изначально диапазон для наибольшей широты охвата, как правило, включает не менее 3 доз с логарифмическими интервалами между дозами (например, 0,1–1–10–100 усл. ед. или 0,1–0,3–1–3–10 усл. ед.), что позволяет с высокой вероятностью определить характер, динамику, дозозависимость токсических эффектов, а также их обратимость (в отставленных группах животных). Неудачно выбранный начальный диапазон и междозовый интервал нередко приводят к досадной для исследователя ситуации – невозможности определения максимального уровня нетоксической дозы и вынужденном использовании для этой цели более низкого уровня доз, невыгодного для положительной характеристики безопасности нового ЛС.

Наше предположение о возможной причине неправильного выбора ВД, связанной с неоднозначностью рекомендуемых критериев и их интерпретации, для специалистов лекарственной токсикологии может показаться необоснованным, что весьма ожидаемо, поскольку токсикологи на практике убеждаются в неэтичности и психологической пагубности экспериментов, сопровождающихся развитием тяжелых и терминальных состояний в исследованиях острой и хронической токсичности. В связи с этим использование максимальных доз в рассмотренном алгоритме и регуляторных требованиях по выбору ВД применимы исключительно для малотоксичных ЛС. Кроме того, использование в исследованиях чрезмерных токсических доз не дает полезной информации о безопасности ЛС для человека, поскольку развитие терминальных состояний является следствием необратимого повреждения гомеостаза, которое соответствует механизму клинических случаев фатальных отравлений. Напротив, для адекватной оценки клинической

¹⁴ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.2020 № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов».

безопасности ЛС токсические эффекты у животных должны развиваться на фоне сохраненных адаптивных функций организма.

Безопасная стартовая доза рассчитывается на основании определения в исследованиях хронической токсичности дозы, не вызывающей развития нежелательных (токсических) эффектов с учетом дополнительных факторов риска, пропорционально снижающих величину стартовой дозы. Такими дополнительными факторами риска являются, в частности, использование LOEL вместо NOAEL, недостаточная продолжительность эксперимента, не установленный механизм действия ЛС и др.

Релевантным видом животных для доклинических исследований считают вид, имеющий целевую мишень специфического фармакологического действия ЛС и наиболее чувствительный к его действию. В соответствии с рекомендациями Евразийской экономической комиссии¹⁵ в токсикологических исследованиях используют тот вид животных, на котором был продемонстрирован фармакологический эффект ЛС.

График проведения доклинических исследований безопасности зависит от их значимости для конкретной стадии клинической разработки. Так, результаты исследований острой токсичности в настоящее время могут быть представлены к III фазе клинических исследований, а результаты исследований подострой и субхронической токсичности представляются к I и II фазам. Полномасштабные исследования хронической токсичности (до 6 мес. на грызунах и до 9 мес. на негрызунах) представляются к III фазе или к моменту регистрации нового ЛС.

Тенденция будущей эволюции методологии доклинических исследований безопасности,

вытекающая из концепции 3R, выражается в сокращении и рациональности использования экспериментальных животных, исключении летальных экспериментов в токсикологических исследованиях *in vivo* наряду с внедрением альтернативных инновационных и высокотехнологичных методов *in vitro* и *in silico*.

Заключение

Проведенный анализ позволил предположить, что причиной необоснованного выбора ВД в токсикологических исследованиях является неоднозначность интерпретации методических рекомендаций в случае отсутствия в них нормирования предела верхней границы токсических доз и недостаточной определенности критериев выбора дозы по выраженности токсического действия, соотношению доз и экспозиции ЛС у экспериментальных животных и человека. При выборе ВД для изучения общетоксического действия ЛС необходимо пользоваться критериями и алгоритмом, приведенными в «Руководстве по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»¹⁶.

Принципиальное значение для выбора ВД, обоснования релевантности доклинических исследований и интерпретации результатов имеют данные токсикокинетических исследований, подтверждающие достижение достаточной системной экспозиции препарата у животных. Соблюдение требований регуляторной токсикологии в отношении выбора доз является необходимым условием корректного планирования базовых доклинических исследований безопасности новых ЛС.

Литература / References

1. Sewell F, Corvaro M, Andrus A, Burke J, Daston G, Delaney B, et al. Recommendations on dose level selection for repeat dose toxicity studies. *Arch Toxicol*. 2022;96:1921–34. <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03293-3>
2. Buckley LA, Dorato MA. High dose selection in general toxicity studies for drug development: a pharmaceutical industry perspective. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2009;54(3):301–7. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.05.015>
3. Шекунова ЕВ, Ковалева МА, Макарова МН, Макаров ВГ. Выбор дозы препарата для доклинического исследования: межвидовой перенос доз. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(1):19–28. Shekunova EV, Kovaleva MA, Makarova MN, Makarov VG. Dose selection in preclinical studies: cross-species dose conversion. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(1):19–28 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-1-19-28>

¹⁵ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 21.05.2020 № 10 «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения».

¹⁶ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

4. Woutersen M, Muller A, Pronk MEJ, Cnubben NHP, Hakkert BC. Regulating human safety: how dose selection in toxicity studies impacts human health hazard assessment and subsequent risk management options. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2020;114:104660. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104660>
5. Kociba RJ. Issues in biochemical applications to risk assessment: how should the MTD be selected for chronic bioassays? *Environ Health Perspect.* 1987;76:169–74. <https://doi.org/10.1289/ehp.8776169>
6. Saunders MD. A review of the main considerations for formulation development in preclinical toxicology studies. *Int J Toxicol.* 2021;40(6):551–6. <https://doi.org/10.1177/10915818211043756>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Г.Н. Енгальчева – концепция статьи, написание текста рукописи; Р.Д. Сюбаев – написание текста рукописи, работа с графическим материалом.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Galina N. Engalycheva conceptualised the study and drafted the manuscript. Rashid D. Syubaev drafted the manuscript and worked with the graphical material.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project № 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Енгальчева Галина Нинелевна, канд. биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>
Engalycheva@expmed.ru

Сюбаев Рашид Даутович, д-р мед. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>
Subaev@expmed.ru

Поступила 14.02.2023

После доработки 06.03.2023

Принята к публикации 06.06.2023

Galina N. Engalycheva, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>
Engalycheva@expmed.ru

Rashid D. Syubaev, Dr. Sci. (Med.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>
Subaev@expmed.ru

Received 14 February 2023

Revised 6 March 2023

Accepted 6 June 2023