

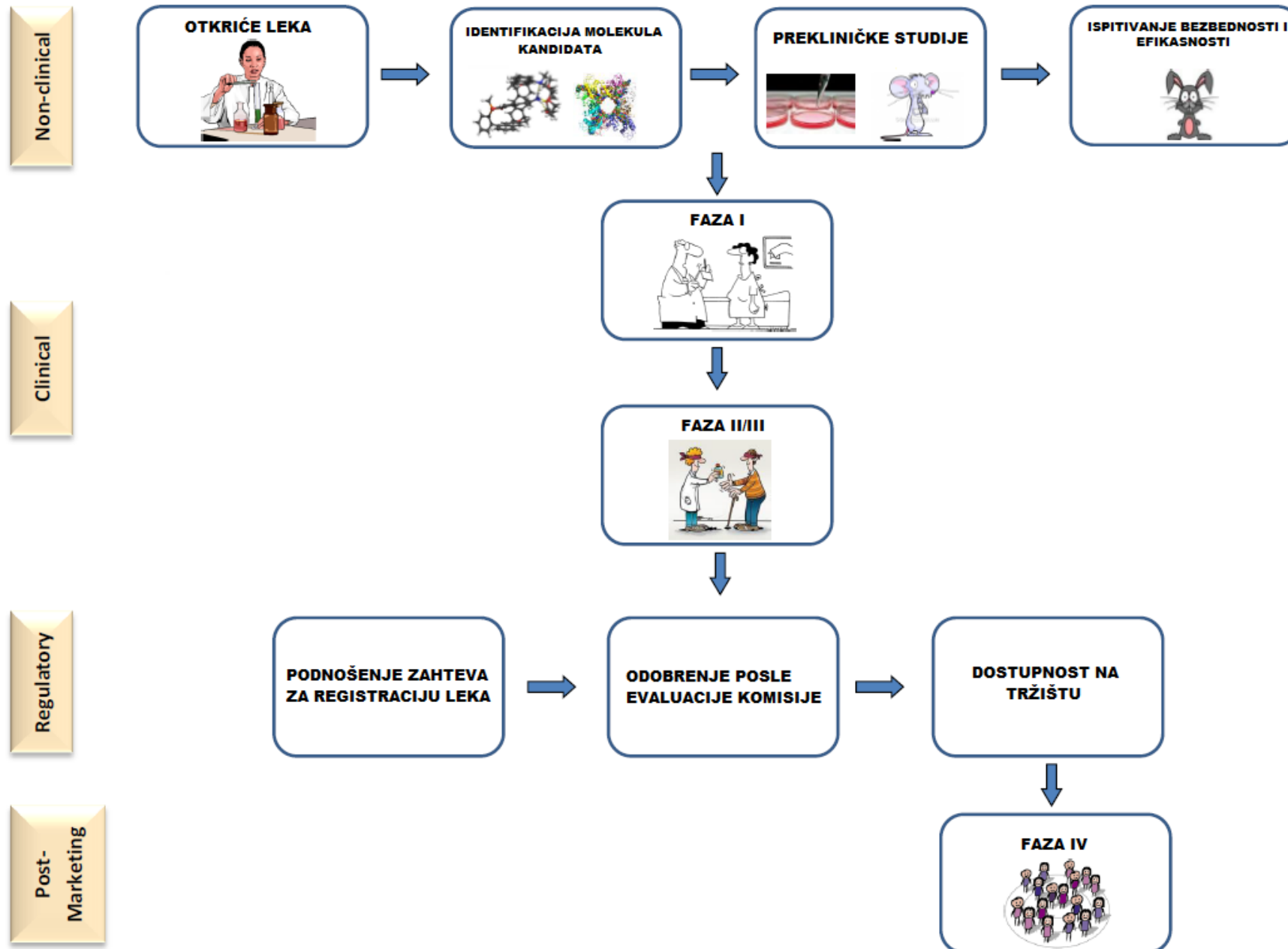
Predklinička i klinička ispitivanja veterinarskih lekova

Dr Saša M. Trailović
Fakultet veterinarske medicine

RAZVOJ NOVOG LEKA



EUROPEAN MEDICINES AGENCY



ŠEMA PREDKLINIČKOG ISPITIVANJA LEKOVA



Šema toksikoloških ispitivanja lekova

TEST	NAČIN IZVOĐENJA	ZNAČAJ
Akutna toksičnost 	Utvrđivanje srednje letalne doze LD ₅₀ . Utvrđivanje maksimalno tolerantne doze (dva specijesa dve doze)	Upoređivanje sa terapijskom dozom
Subakutna toksičnost 	Izvodi se sa tri doze na dva specijesa, traje oko 6 meseci.	Prate se biohemijksi parametri, patoanatomske promene, patohistološke promene, ciljna toksičnost
Hronična toksičnost 	1-2 godine	Ista ispitivanja
Reproduktivna toksičnost i teratogenost	Uticaj na parenje, graviditet, plod	Ispituje se da li lek može da se primeni u graviditetu
Kancerogenost 	Dve godine dva specijesa	Patoanatomska, patohistološka i hematološka ispitivanja
Mutagenost	Dejstvo na genetsku stabilnost bakterija (<i>Ames test</i>) i ćelije sisara	

Preklinička ispitivanja lekova (zahtevi)

Annex 1 to Directive 2001/83/EC



FARMAKOLOŠKA ISPITIVANJA

- ☐ **PRIMARNA FARMAKODINAMIKA**
- ☐ **SEKUNDARNA FARMAKODINAMIKA**
- ☐ **PREDKLINIČKA STUDIJA BEZBEDNOSTI**
- ☐ **FARMAKODINAMSKE INTERAKCIJE**

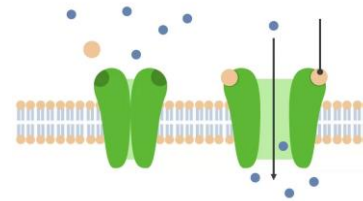
FARMAKOKINETIČKA ISPITIVANJA

TOKSIKOLOŠKA ISPITIVANJA

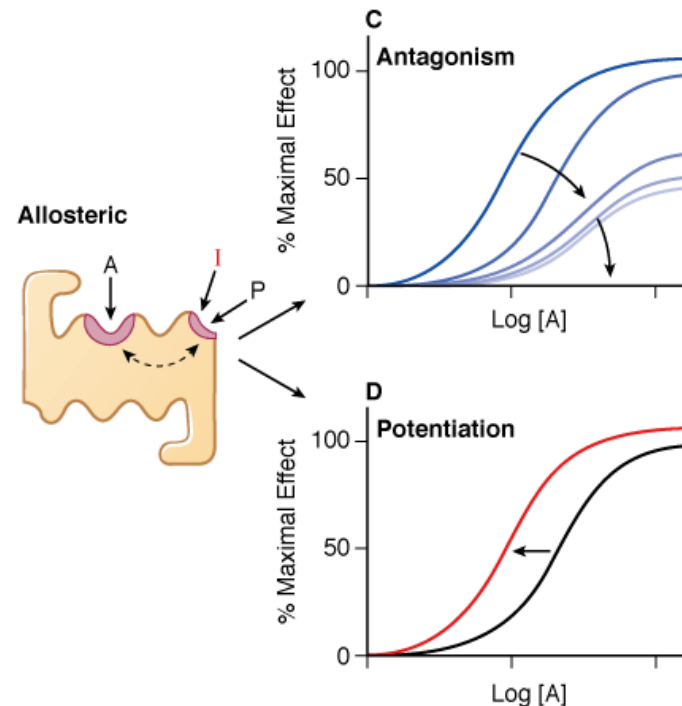
- **Primarne farmakodinamske studije** se odnose na ispitivanja načina delovanja i/ili mehanizma delovanja supstance u odnosu na željeni terapijski cilj.
- **Sekundarne farmakodinamske studije** (ranije označene kao opšte farmakološke studije) se mogu definisati kao studije o načinu delovanja i/ili efektu supstance koji nisu u vezi sa njenim željenim terapijskim dejstvom.
- **Studije bezbednosti** su definisane kao ispitivanja potencijalnih neželjenih farmakodinamskih efekata supstance na fiziološke funkcije, primenjenih u potencijalnim terapijskim dozama (koncentracijama).

- **Farmakodinamska ispitivanja treba da odrede profil ispitivane supstance:**

- **VEZIVANJE ZA RECEPTORE ILI ENZIME**
- **VRSTU RECEPTORA ILI ENZIMA**
- **FUNKCIONALNE POSLEDICE VEZIVANJA (agonista/antagonista, stimulacija/inhibicija) uključujući odgovarajuće ćelijske signalizacije**
- **(I)REVERZIBILNOST EFEKATA, TRAJANJE EFEKTA, FIZIOLOŠKE POSLEDICE**



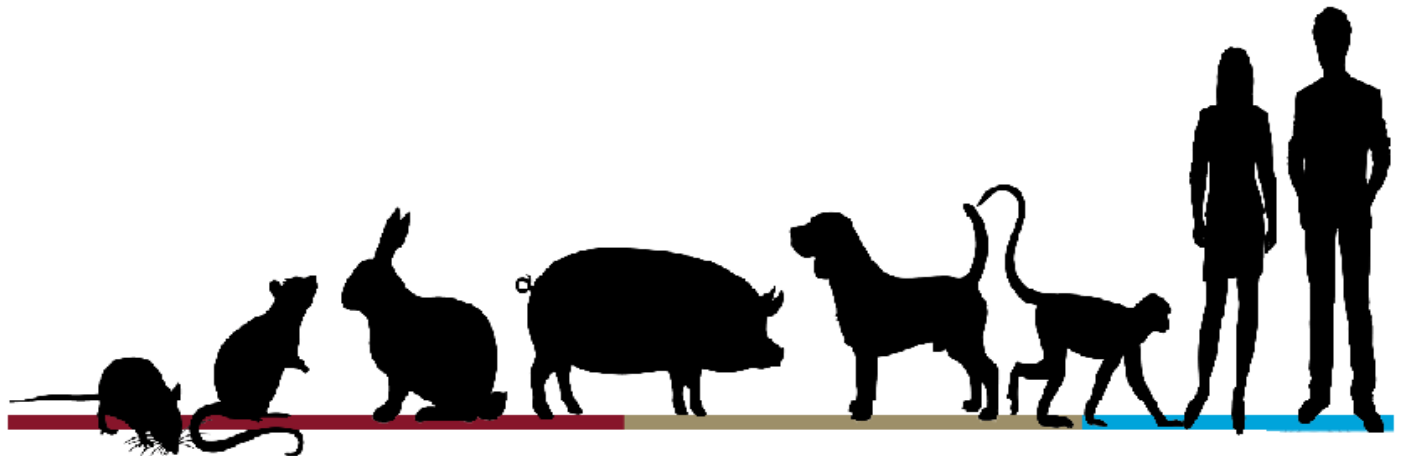
- **Primarne i sekundarne farmakodinamske studije sprovode se *in vitro*, korišćenjem materijala životinja i ljudi i *in vivo* koristeći animalne modele.**
- **Ove studije treba da definišu ciljne interakcije, vezivanja receptora, inhibiciju enzima, trajanje efekta i doznu zavisnost efekta (odnos doze i efekta).**



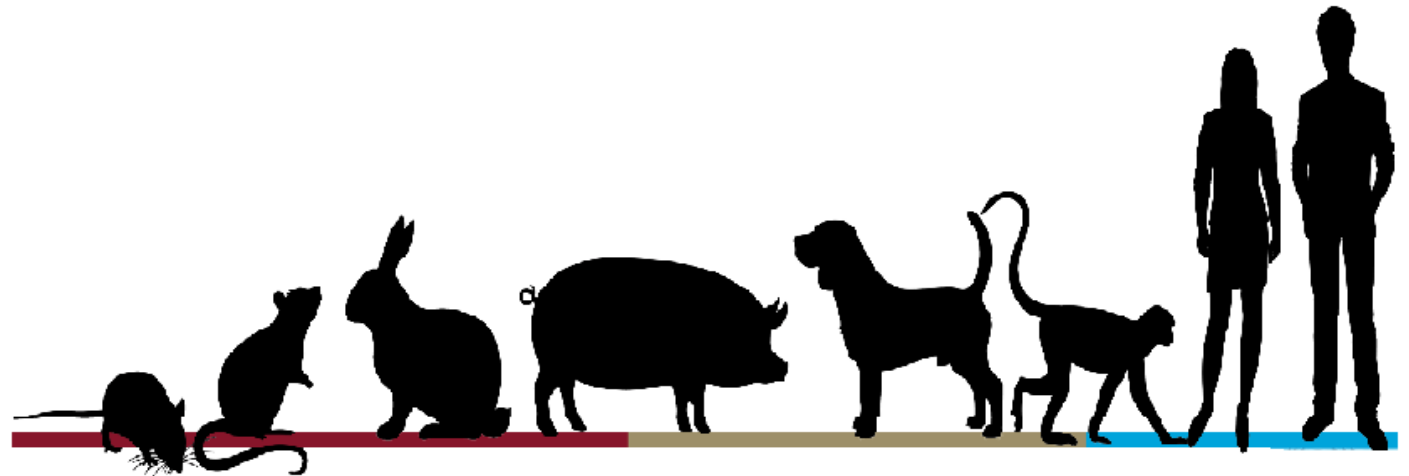
- **Šta je potrebno definisati?**



- **Bezbednost za životinje za koje je indikovao lek.**
- **Bezbednost za doktore veterinarske medicine koji aplikuju.**
- **Bezbednost za ljude koji konzumiraju proizvode (tkiva) životinja koje su tretirane.**



- **Bezbednost za ljude koji konzumiraju proizvode (tkiva) životinja koje su tretirane.**
- **Bezbednost za doktore veterinarske medicine koji aplikuju.**
- **Bezbednost za životinje za koje je indikovao lek.**



- **Humani lekovi se procenjuju u pogledu bezbednosnih i farmakoloških osobina na osnovu ispitivanja na životinjskim modelima, pre ulaska u studije na ljudima.**
- **Proces razvoja veterinarskih lekova može uzeti u obzir laboratorijske studije na životinjama, ali registracija veterinarskih lekova zavisi od studija koje definišu bezbednost i efikasnost kod ciljanih vrsta životinja.**
- **Ciljna vrsta je ona za koju je proizvod indikovano za upotrebu. Na primer, da biste dobili registraciju leka za pse, efikasnost i bezbednost moraju biti dokazani kod psa.**



- **Za razliku od kliničkih studija na ljudima, konformacione veterinarske kliničke studije se formalno ne nazivaju Faza I, II, III ili IV.**
- **Faza I-IV su termini koji se koriste za klinička ispitivanja na ljudima koji imaju za cilj da podrže novu aplikaciju za lek ili novu aplikaciju za biološki proizvod (vakcinu, serum, antitoksin i dr.) ili taj lek tokom post-marketinškog perioda.**
- **Veterinarske studije se ponekad u literaturi pominju kao faza I, II, III i IV, ali ovi termini nisu adekvatni u kontekstu procesa odobrenja veterinarskog leka.**
- **Odgovarajući termini su:**
 - **Studije bezbednosti na ciljnim vrstama životinja (*Target Animal Safety Studies*) i**
 - **Studije efikasnosti na ciljnim vrstama životinja (*Target Animal Effectiveness Studies*).**

International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH)



- **VICH je trilateralni (EU-Japan-SAD) program koji ima za cilj harmonizaciju tehničkih zahteva za registraciju veterinarskih proizvoda.**
- **Međunarodna saradnja na usklađivanju tehničkih uslova za registraciju veterinarskih lekova.**
- **VICH je zvanično pokrenut u aprilu 1996.**
- **VICH GL 43 (*TARGET ANIMAL SAFETY*) - PHARMACEUTICALS July 2008**

- **Podaci iz studija o bezbednosti za ciljne životinje (TAS) su potrebni za registraciju veterinarskih proizvoda u regionima koji učestvuju u VICH.**
- **Ovaj dokument sa uputstvima je namenjen za bilo koji veterinarski lek koji se koristi kod sledećih vrstama:**
 - **Goveda, ovce, koze, mačke, psi, svinje, konji i živina (kokoške i ćurke).**
 - **Preporuke možda nisu prikladne za lokalnu registraciju proizvoda za upotrebu „*minor use/minor species*“ od strane nacionalnih ili regionalnih vlasti.**
 - **Uputstvo ne pruža informacije za dizajn TAS studija na drugim vrstama, uključujući vodene životinje.**

VICH GL 43 (TARGET ANIMAL SAFETY) - PHARMACEUTICALS July 2008



Ispitivanja granica bezbednosti leka

- **Cilj TAS studija je da pruži informacije o bezbednosti veterinarskog leka kod predviđenih vrsta pod predloženim uslovima primene.**
- **Studija granica bezbednosti je neophodna u odobrenju veterinarskog leka.**
- **Potrebno je identifikovati štetne efekte povezane sa predoziranjem i produženim trajanjem primene.**
- **Potvrda doze i terenske studije sprovedene radi potvrđivanja efikasnosti veterinarskog leka pružaju dalje informacije o bezbednosti kod ciljne vrste.**

- **Studija granica bezbednosti je generalno potrebna za nove supstance ili nove formulacije poznatih aktivnih susptanci.**
- **Izuzeci su kada se na osnovu poznate toksikologije i bezbedonosnog profila kod ciljnih životinja, široke kliničke upotrebe postojećih proizvoda i/ili gde je dokazano da je sistemsko ili lokalno izlaganje (po potrebi) novog proizvoda ekvivalentno ili manje nego kod postojećeg proizvoda.**
- **Studije granica bezbednosti i druge laboratorijske bezbednosne studije moraju se izvršiti u skladu sa principi dobre laboratorijske prakse (GLP).**
- **Koncepti dobre proizvođačke prakse (cGMP) mora biti primenjen na ispitivani veterinarski lek.**

Veterinarski farmaceutski proizvod i način primene

- **Veterinarski lek koji se procenjuje treba da bude proizvod namenjen za tržište.**
- **Procena leka se vrši u poređenje sa placebo (npr. fiziološkim rastvorom) ili netretiranom kontrolom.**
- **Detalji formulacije, generički ili komercijalni naziv, ime i broj serije moraju da budu dokumentovati.**
- **Doziranje treba da prati predloženo doziranje i način primene.**

- **Ako hrana utiče na bioraspoloživost aktivnog principa, životinjama bi to trebalo uskratiti hranu pre davanja leka kako bi se obezbedila najveća verovatnoća pojave neželjenih efekata.**
- **Ako zapremina leka ili ukus predstavljaju ograničavajući faktor za veće nivoe doze, potrebno je primeniti alternativne tehnike (na primer, više mesta davanja, gavaža ili povećanje učestalost primene).**
- **Ako je za lek predloženo više načina primene, kao osnovu za studije bezbednosti treba izabrati put koji je najverovatniji da će izazvati neželjene efekt.**
- **Dodatne studije o lokalnoj toleranciji treba sprovesti, prema potrebi.**

Doze, učestalost i trajanje primene

- **Opšti dizajn za studije granica bezbednosti podrazumeva primenu višestrukih doza i dužine primene ispitivanog leka.**
- **Dizajn studije granica bezbednosti treba da sadrži negativnu kontrolu, najviši preporučeni nivo doze (1x) i dva viša dozna nivoa, tri puta (3x) i pet puta viša doza od preporučene (5x) u periodu dužem od preporučenog maksimalnog trajanje primene.**
- **Generalno se preporučuje da tretman predviđenim dozama bude tri puta duži od preporučenog, ali se toleriše i protokol u kome se dve više doze primenjuju u preporičenom periodu a samo 1x doza u periodu tri puta dužem od preporučenog.**

Dizajn studije

- **Najvažnije tehnike za neutralisanje pristrasnosti u studijama su randomizacija i maskiranje (zaslepljivanje).**
- **Plan randomizacije treba koristiti za raspoređivanje životinja u grupe za tretman.**
- **Ciljne studije bezbednosti obično uključuju relativno mali broj životinja (uglavnom 8 po tretmanu), oba pola, osim ako je proizvod namenjen samo za jedan pol.**



Observacija, klinički pregled i zapažanja

- **Detaljan fizički pregled u nekoliko vremenskih tačaka tokom studije, uključujući početak i kraj.**
- **Zapažanja u vezi sa opštim zdravljem i ponašanjem se evidentiraju svakodnevno, sedam dana u nedelji ili u unapred određenim intervalima tokom čitavog perioda.**
- **Potrošnja hrane i vode se prati u odgovarajućim intervalima.**
- **Telesnu masu se meri na početku, kraju i nekoliko drugih vremenskih tačaka tokom ispitivanja.**



Opšti klinički pregled

Ocular system
Musculoskeletal system
Cardiovascular system
Reproductive system
Lymphatic system
Behaviour
Nervous system
Integumentary system
Respiratory system
Urinary system
Gastrointestinal system



Specifično ispitivanje mesta ubrizgavanja/aplikacije

Appearance (e.g., erythema, eschar formation, hair loss, scaling, pigmentation)	Swelling
Pain	Heat



Praćenje konzumacije hrane, vode i fizioloških funkcija

Feed intake	Water intake
Weight	Behaviour
Body temperature	Signs of illness
Faeces (consistency, colour and mucus, blood)	

Klinička patologija

- **Laboratorijski testovi (hematologija, biohemija, analiza urina) treba obaviti u nekoliko vremenskih tačaka tokom studija, uključujući na početku i na kraju studije.**

Haematology

Erythrocytes: Total counts; and if applicable, reticulocyte count	Leukocytes: Total and differential counts
Packed cell volume (PCV)	Mean corpuscular volume (MCV)
Mean corpuscular haemoglobin (MCH) and Mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC)	Haemoglobin
Prothrombin time	Platelet count
Activated partial thromboplastin time	Buccal mucosal bleeding time
Whole blood clotting time	Fibrinogen
Acute phase protein	

Blood Chemistry

Sodium	Urea nitrogen
Potassium	Creatinine
Chloride	Alanine aminotransferase (ALT)
Calcium	Aspartate aminotransferase (AST)
Phosphate	Lactate dehydrogenase (LDH)
Magnesium	Gamma-glutamyltransferase (GGT)
Total protein	Alkaline phosphatase (AP)
Albumin	Creatine kinase (CK)
Globulin	Total bile acids
Glucose	Cholesterol
Amylase	



Urinalysis

Colour	Protein
pH	Ketone bodies
Specific gravity (e.g., by refractometer)	Bilirubin
Glucose	Urobilinogen
Microscopic examination of sediment (crystals, casts, RBCs, WBCs, epithelial cells)	

Patoanatomska i patohistološka ispitivanja

- **Tkiva i organe iz svih doznih grupa treba detaljno pregledati i sačuvati za patohistološki pregled.**
- **Patoanatomski i patohistološki pregled tkiva životinja u svim doznim grupama se preporučuje za veterinarske lekove koji sadrže novi aktivni princip.**
- **Za ostale proizvode, najmanje treba ispitati tkiva svih životinja u negativnoj kontrol i najvišoj doznoj grupi.**
- **Takođe, meri se masa unutrašnjih organa.**

Organs/tissues considered for gross and microscopic examination:

Pituitary gland	Brain	Bone and marrow
Thyroid gland	Spinal cord	Marrow smear
Parathyroid gland	Eyes	Spleen
Adrenal gland	Lung	Stomach
Pancreas	Muscle	Duodenum
Ovaries	Mammary gland	Jejunum
Uterus	Liver	Ileum
Testes	Gall bladder	Colon
Prostate	Kidneys	Caecum
Epididymis	Urinary bladder	Thymus
Heart	Lymph nodes	Injection site: e.g., muscle, subcutaneous tissue
Crop	Proventriculus	Bursa of Fabricius
Ventriculus	Skin	

Statistička analiza

- **U većini studija, implikacije na bezbednost se najbolje rešavaju primenom deskriptivnih statističkih metoda za obradu dovbijenih podataka.**
- **Tabele i tekst su uobičajene metode sumiranja podataka, međutim takođe je poželjno koristiti grafičke prezentacije.**



Izveštaj

- **Izveštaj o studiji je dokument koji opisuje ciljeve, materijal i metode, sve izmene i dopune ili odstupanja od protokola, rezultate (uključujući podatke o pojedinačnim životinjama, sažetke podataka i analiza) i zaključke TAS studije.**
- **U nekim zemljama, potrebno je priložiti i neobrađene podatke.**

Dodatne studije bezbednosti

- **Dodatne studije bezbednosti zavise od karakteristika veterinarskog leka i načina njegove aplikacije.**
- **Takve studije se mogu kombinovati sa *Studijom granica bezbednosti* ili sa *Studijom eliminacije rezidua*.**

- **Studija bezbednosti na mestu ubrizgavanja.**



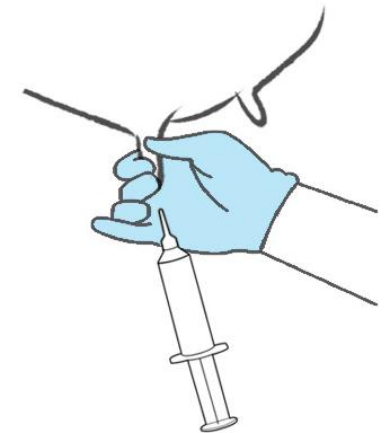
- **Studije bezbednosti na mestu dermalne administracije.**



- **Studije reproduktivne bezbednosti.**



- **Studije o bezbednosti za lekove koji su namenjeni intramamarnoj aplikaciji.**



- **Kliničke studije namenjene proceni efikasnosti veterinarskog leka takođe pružaju bitne podatke o podnošljivosti leka primenjenog na preporučen način.**
- **Ove studije treba da se sprovedu u skladu sa principima GCP.**



Veterinarska farmakovigilanca

- **Sistem farmakovigilance podrazumeva kontinuirano praćenje bezbednosti identifikovanjem i analizom svih negativnih efekata veterinarskih lekova koji se mogu javiti kod životinja.**
- **PSUR**

- **Svaki veterinarski lek koji prođe opisane studije je apsolutno bezbedan za ciljne životinjske vrste.**



- **Hvala na pažnji!**



2023

The study of anthelmintic' target sites in the neuromuscular system of parasitic nematodes in order to improve pharmacotherapy and develop of new drugs