



Клинические исследования

Роль доклинических и клинических исследований в инновационном развитии здравоохранения

Академик РАМН Е.В.Шляхто



Начало XXI века : кризис инноваций:

- › Глобальный экономический кризис
- › Стагнация роста традиционных рынков
- › Сокращение объемов инвестиций
- › Уменьшение количества патентов
- › Несовершенство нормативно-правовой базы
- › Пристальное внимание со стороны средств массовой информации и регуляторных органов
- › Проблемы конфликта интересов врачей



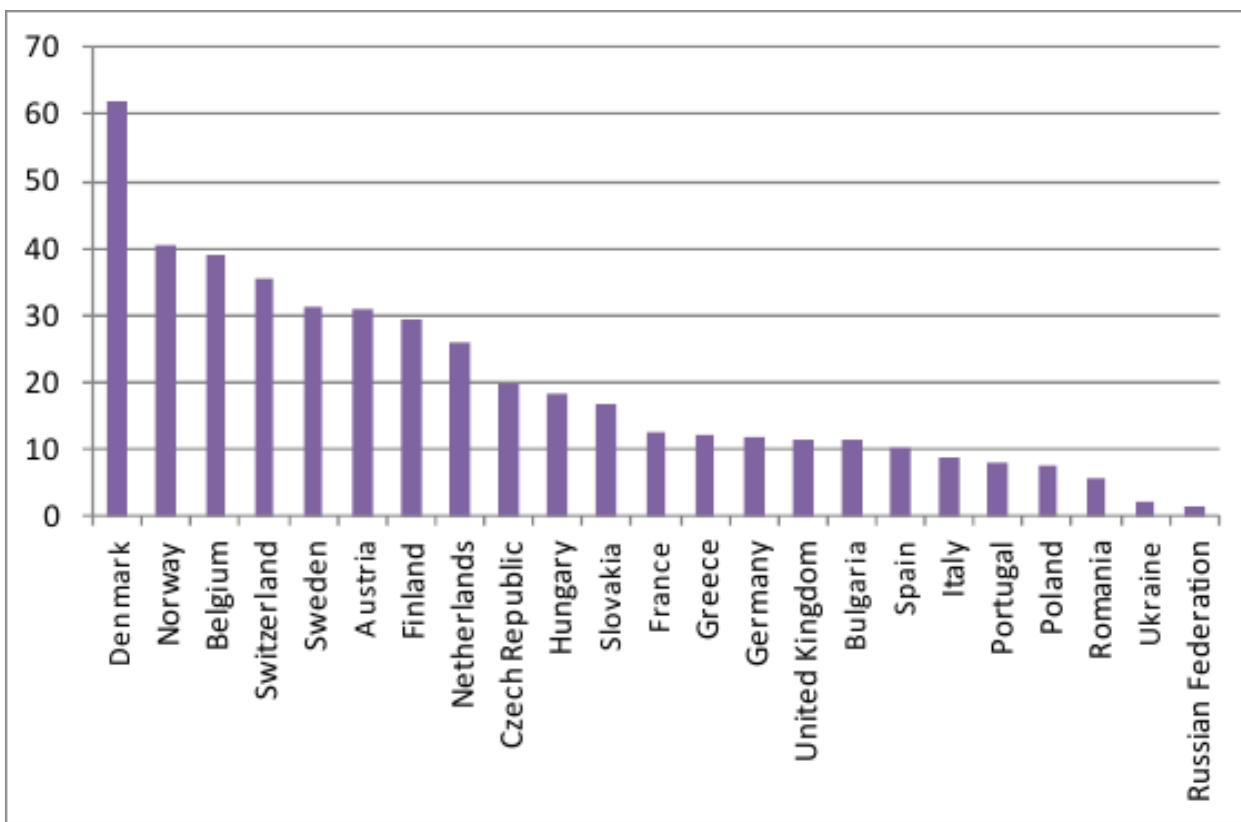
Проблема :

трансляционные барьеры !

- Недостаточность контактов между учеными и врачами-клиницистами;
- Проблематичность экстраполяции данных, полученных на животных, на клиническую ситуацию;
- Ошибочный дизайн клинических исследований новых лекарственных препаратов;
- Малые объемы финансирования для продвижения инновационных продуктов и организации их производства;
- Инертность мышления специалистов практического здравоохранения.



Количество клинических исследований на 100 000 населения

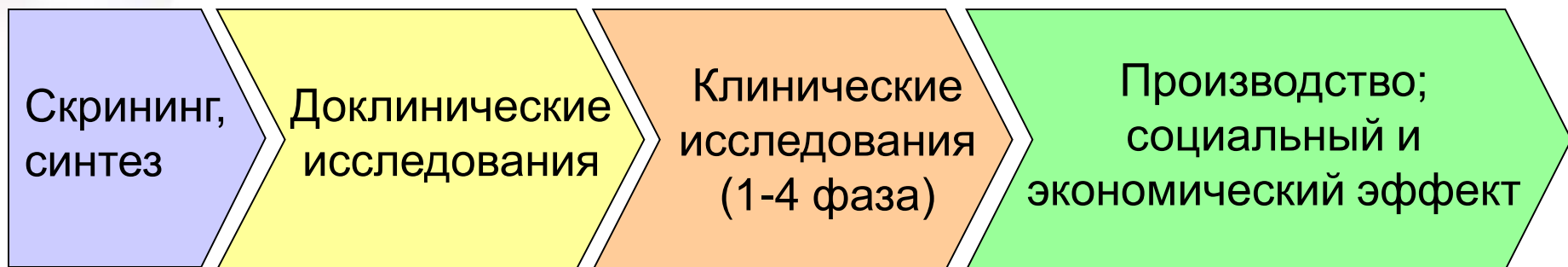


По данным аналитической компании «PricewaterhouseCoopers», мировой рынок клинических исследований оценивается в 50–80 млрд \$ США

Глобальный регистр клинических исследований, www.clinicaltrials.gov, апрель 2013 года



Стандартный цикл разработки и внедрения нового лекарственного средства

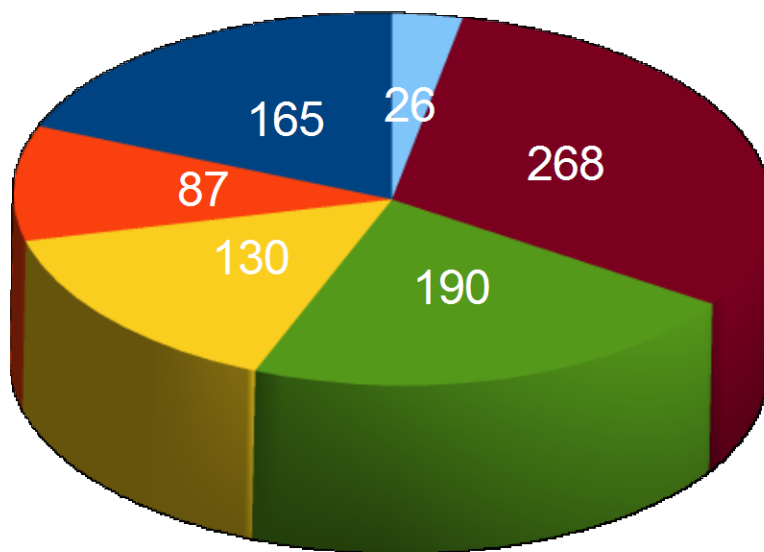


12 лет, 1,2 млрд. \$



Структура расходов на разработку лекарственного средства по стадиям

Млн долларов США

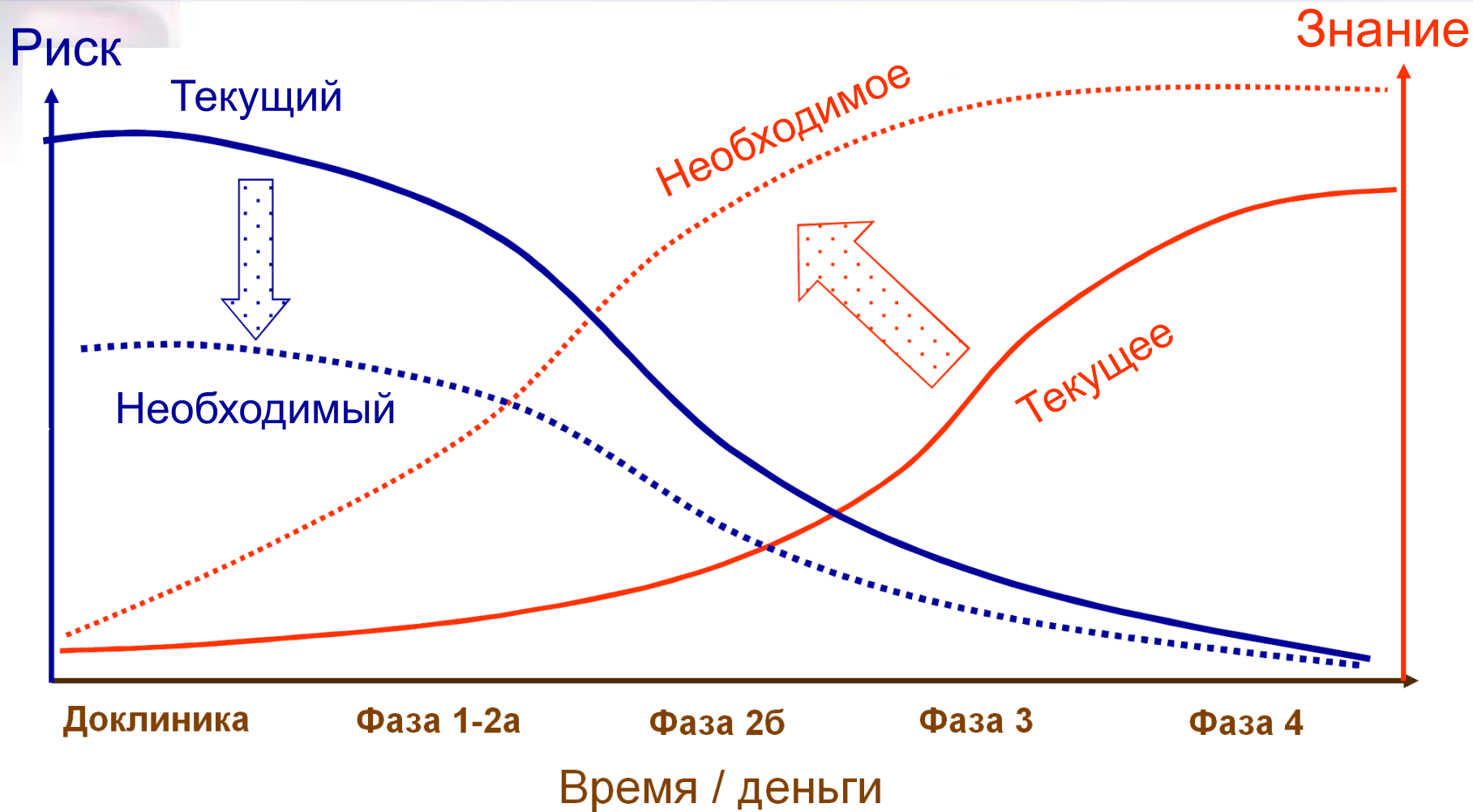


- Фундаментальные исследования
- Доклинические исследования
- Фаза I
- Фаза II
- Фаза III
- Регистрация лекарственного средства

по данным доклада «Clinical trials in Poland — Key Challenges» аналитической компании «PricewaterhouseCoopers».



Основные цели оптимизации процесса создания лекарственных средств



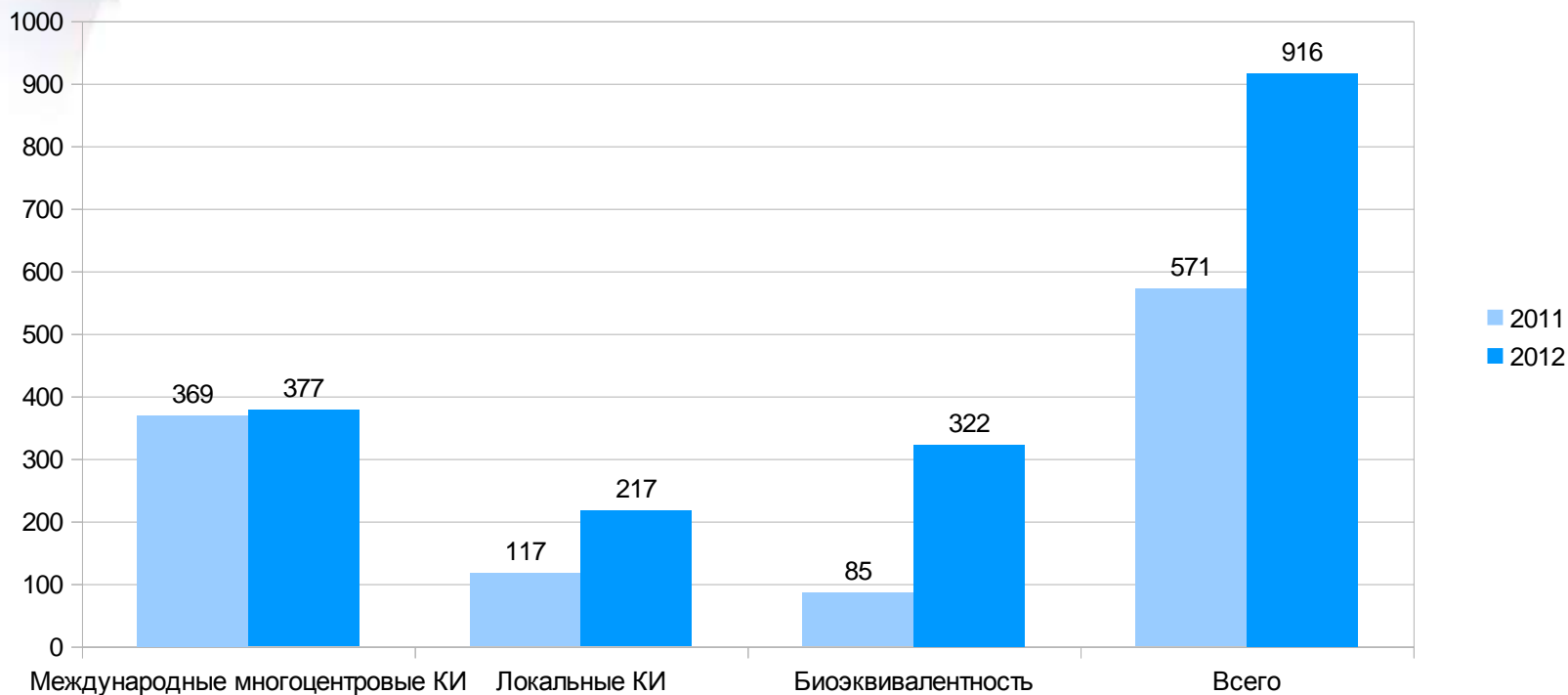


Экономический эффект от проведения клинических исследований

- ✓ Сборы и налоги в государственный бюджет
- ✓ Альтернативный путь экономии средств в сфере здравоохранения
- ✓ Обеспечение и улучшение инфраструктуры учреждений, проводящих клинические исследования
- ✓ Обеспечение занятости и другие экономические стимулы для компаний, оказывающих услуги в рамках организации и проведения клинических исследований
- ✓ Получение пациентами доступа к «золотым стандартам» лечения
- ✓ Обмен опытом, передача знаний об инновационных подходах к лечению
- ✓ Возможность профессионального развития и получения опыта для исследователей и врачей

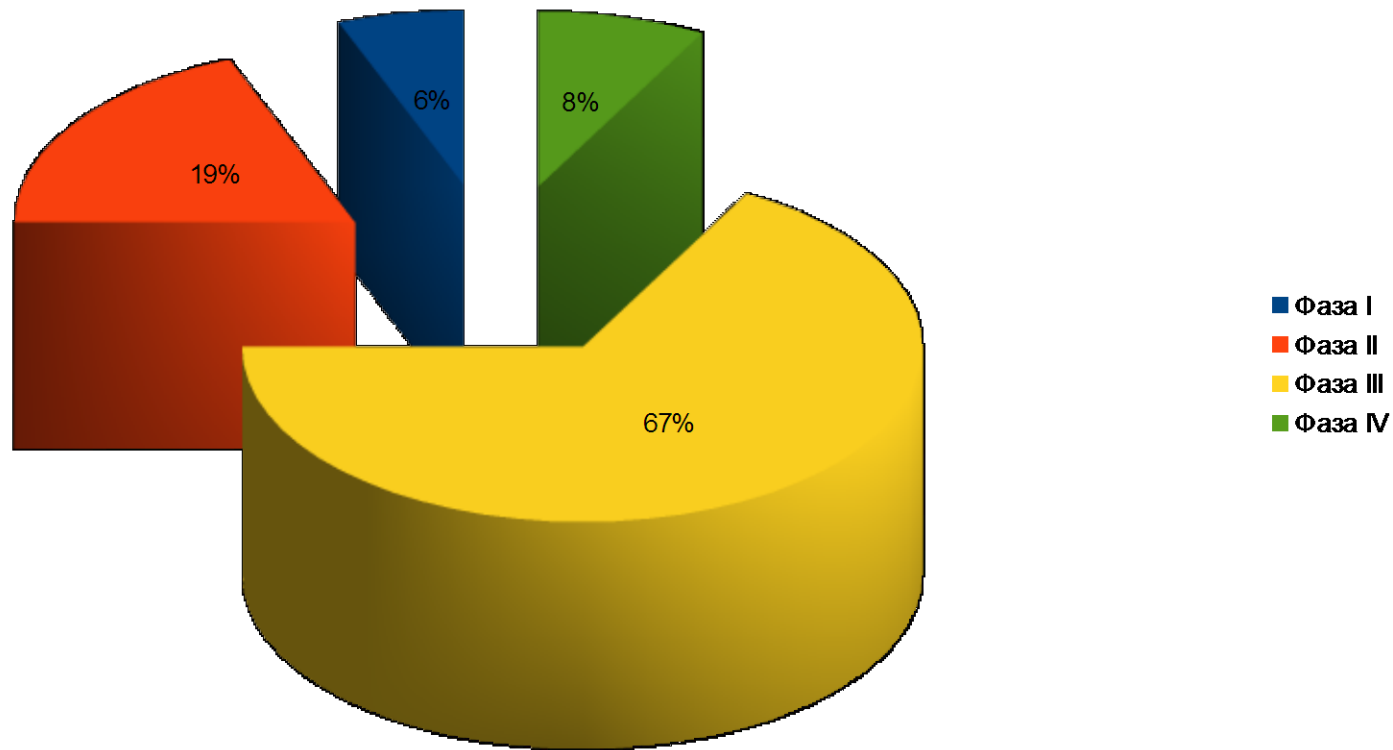


Клинические исследования в России в 2012 году



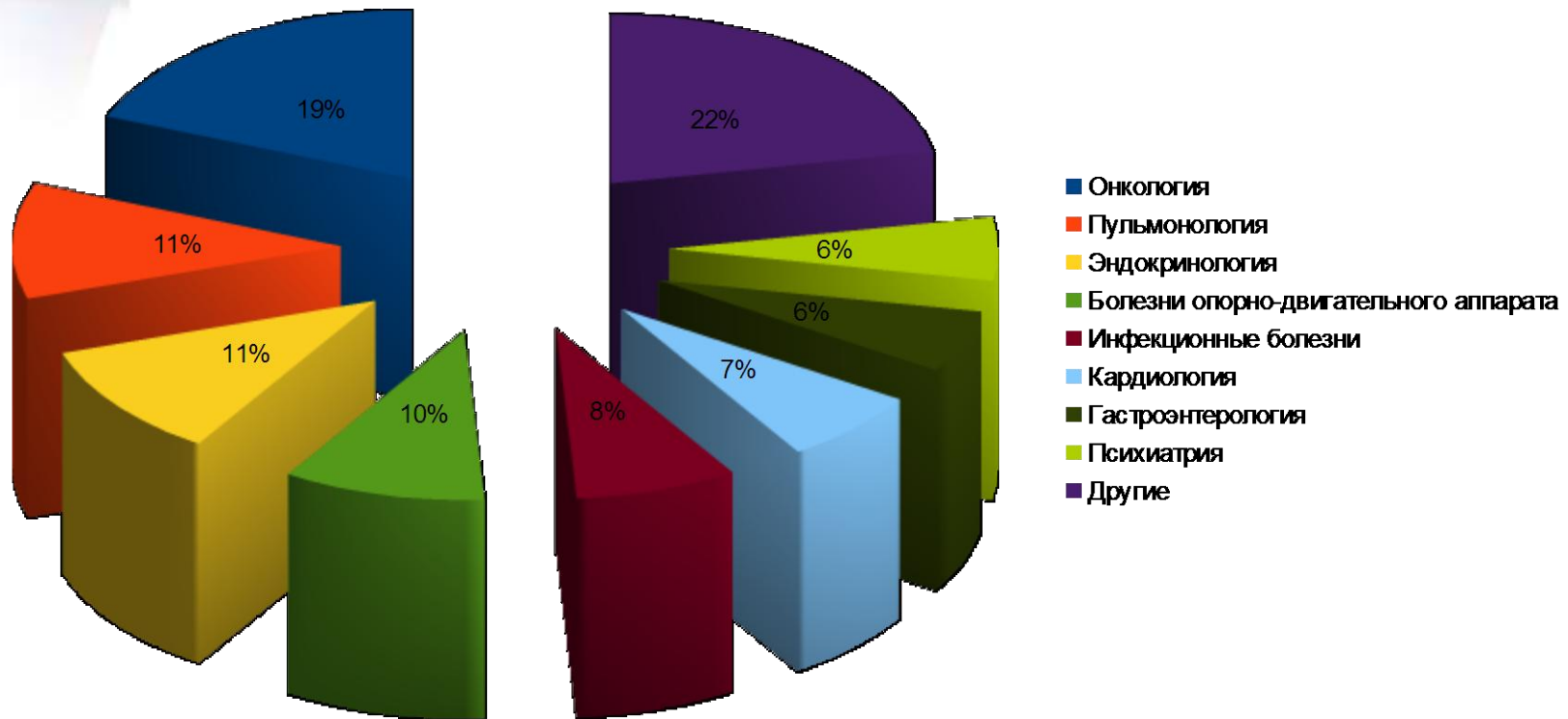


Фазы клинических исследований в России в 2012 году





Терапевтические области проведения клинических исследований в России в 2012 году



Synergy Research Group, Orange paper,

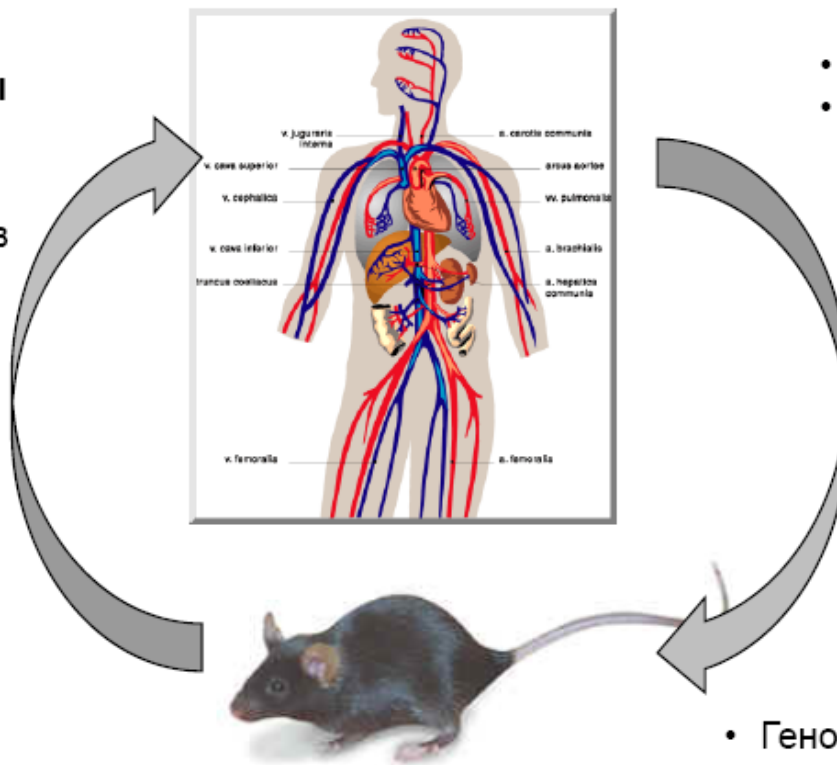
<http://www.synrg-pharm.ru/article30.htm>, апрель 2013

года

Выход : переход к трансляционной медицине

Апробация гипотезы

- Поиск биомаркеров
- Создание новых методов диагностики, лечения и профилактики заболевания



Тестирование гипотезы

= изучение патогенеза заболевания

Создание биобанков:

- ДНК, РНК, белки, ткани
- Клинические и лабораторные данные

- глобальные скрининги
- биоинформатика

Формирование гипотезы

- Гено-модифицированные мыши (ApoE^{-/-}, LDLR^{-/-}, ApoB⁺, и др)
- Культуры клеток

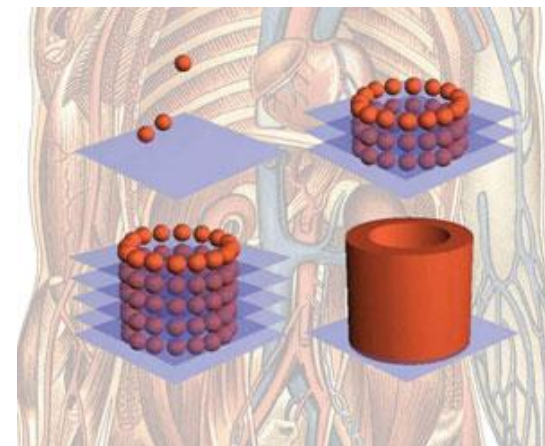


Имеющиеся проблемы в проведении доклинических исследований

- Не для всех распространенных заболеваний разработаны адекватные фармакологические модели
- Тестирование токсичности требует существенных затрат времени и средств
- Необходимы большие количества животных
- Экстраполяция данные о токсичности с животных на человека не всегда абсолютно надежна
- Детекция редких побочных эффектов маловероятна

Новые тренды в исследованиях ТОКСИЧНОСТИ

- Результаты тестирования токсичности на грызунах и крупных животных не всегда дают абсолютно надежный результат
- NIH инициирована программа по оценке токсичности новых субстанций с использованием новых достижений генно-клеточной инженерии, в частности:
 - трехмерных тканеинженерных моделях органов человека (“органоидах”) – сердца, почки, печени;
 - индуцированных плюрипотентных клетках людей с определенными генотипами – фармакогенетика *in vitro*



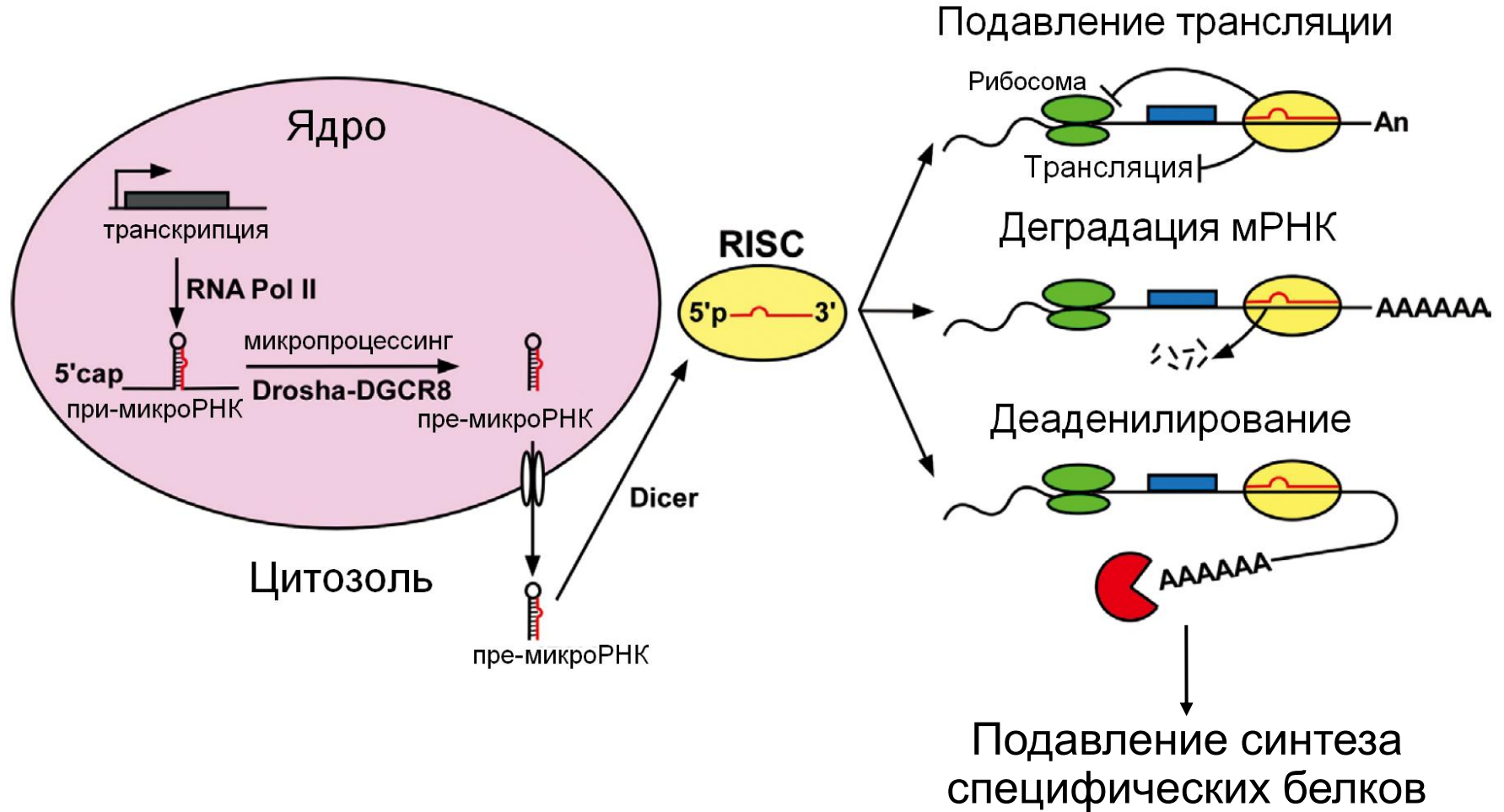


Новые медицинские технологии в кардиологии, разрабатываемые на основе фундаментальных и клинических исследований

- **Методы молекулярно-генетической диагностики и прогнозирования**
- Методы направленной терапии
- Технологии клеточной терапии

Диагностика на основе анализа микро-РНК

Биогенез и эффекты микроРНК



Функции микроРНК в развитии сердца и при заболеваниях ССС

Эндотелиальные клетки



Function: e.g. miR-126, miR-17~92, miR-130, miR-210

Гладкомышечные клетки



Function: e.g. miR-143, miR-145, miR-221, miR-21

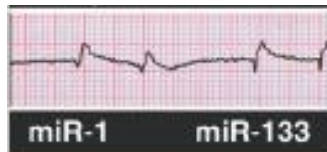
КМЦ



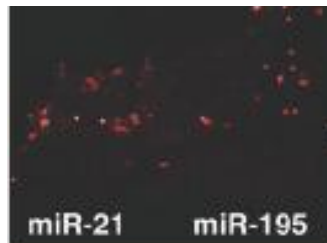
Function: e.g. miR-133, miR-208, miR-23, miR-320, miR-221/2

(from Ohtani, Dimmeler, 2011)

Нарушения ритма сердца



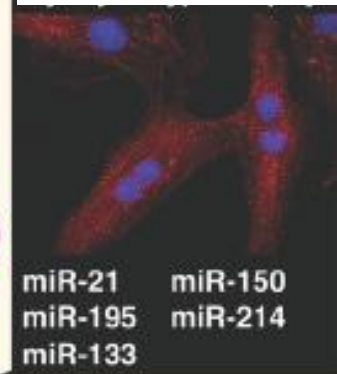
Апоптоз КМЦ



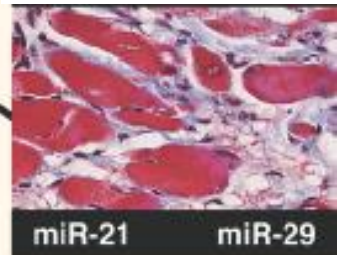
Постинфарктный ангиогенез



Гипертрофия



Фиброз



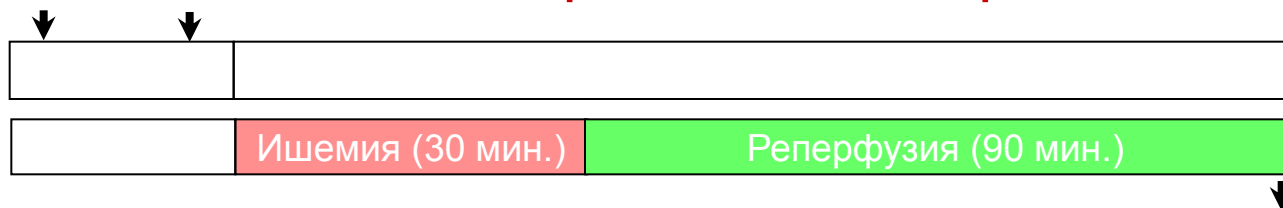
Сократимость



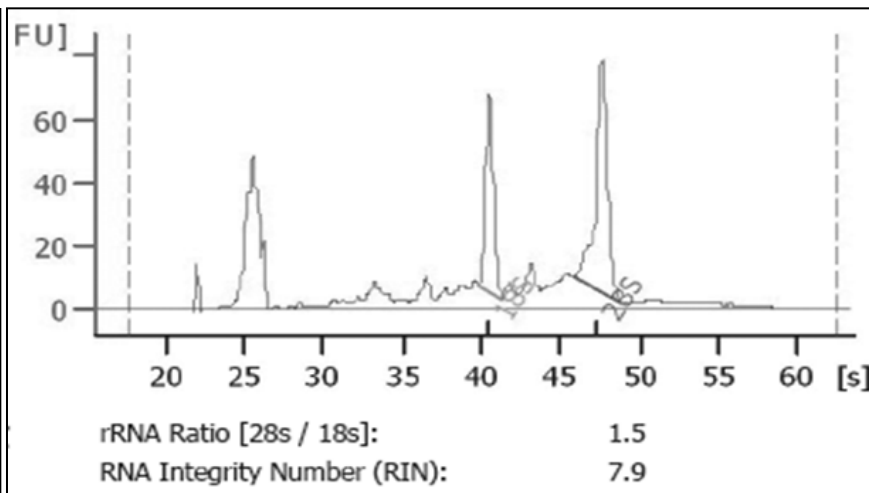
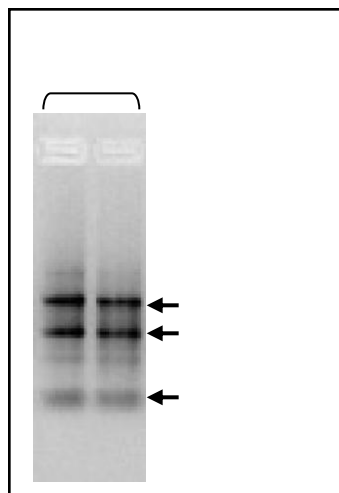
(from Rooij et al, 2008)

Новые биомаркеры повреждения миокарда при ОКС: повышение уровня микроРНК-208а в цельной крови после ишемии-реперфузии миокарда у крыс

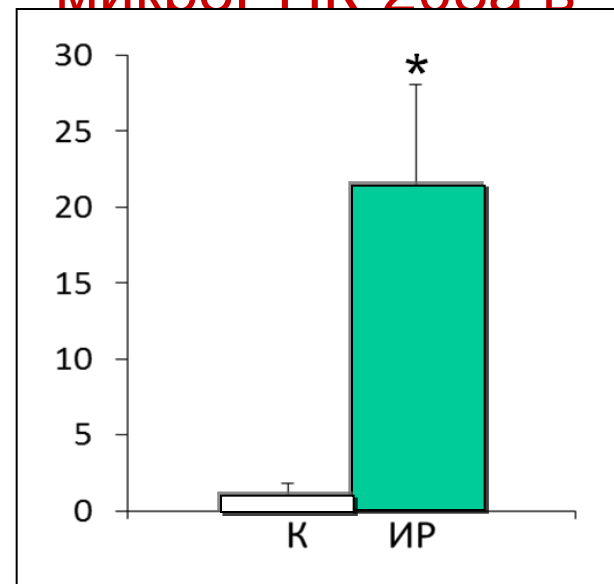
Протокол эксперимента



Малые РНК в препаратах цельной

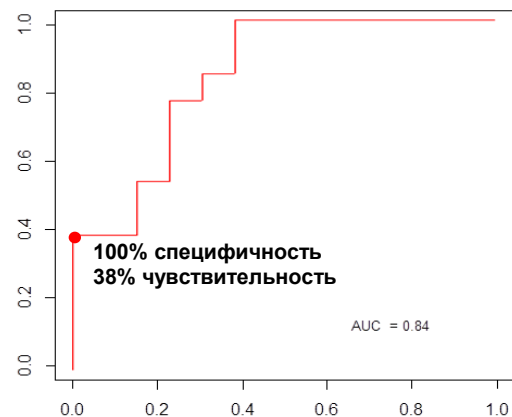
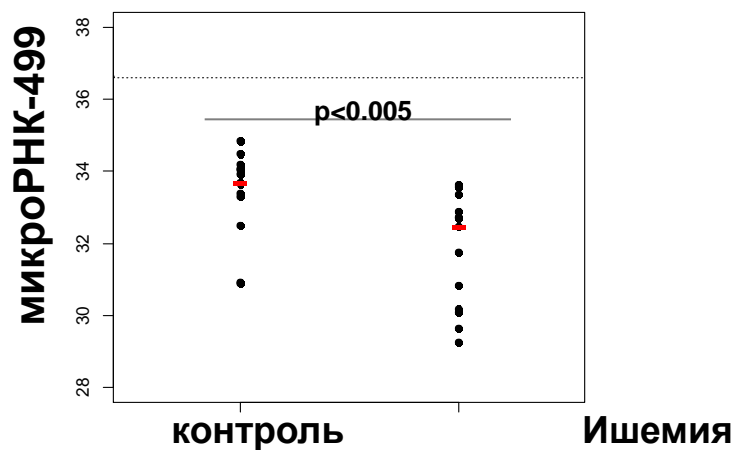
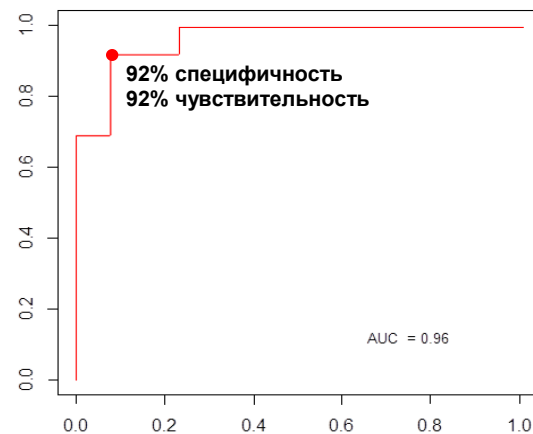
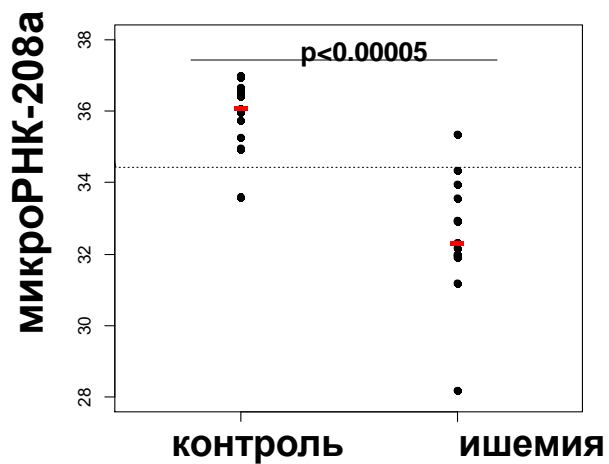


Прирост микроРНК-208а в

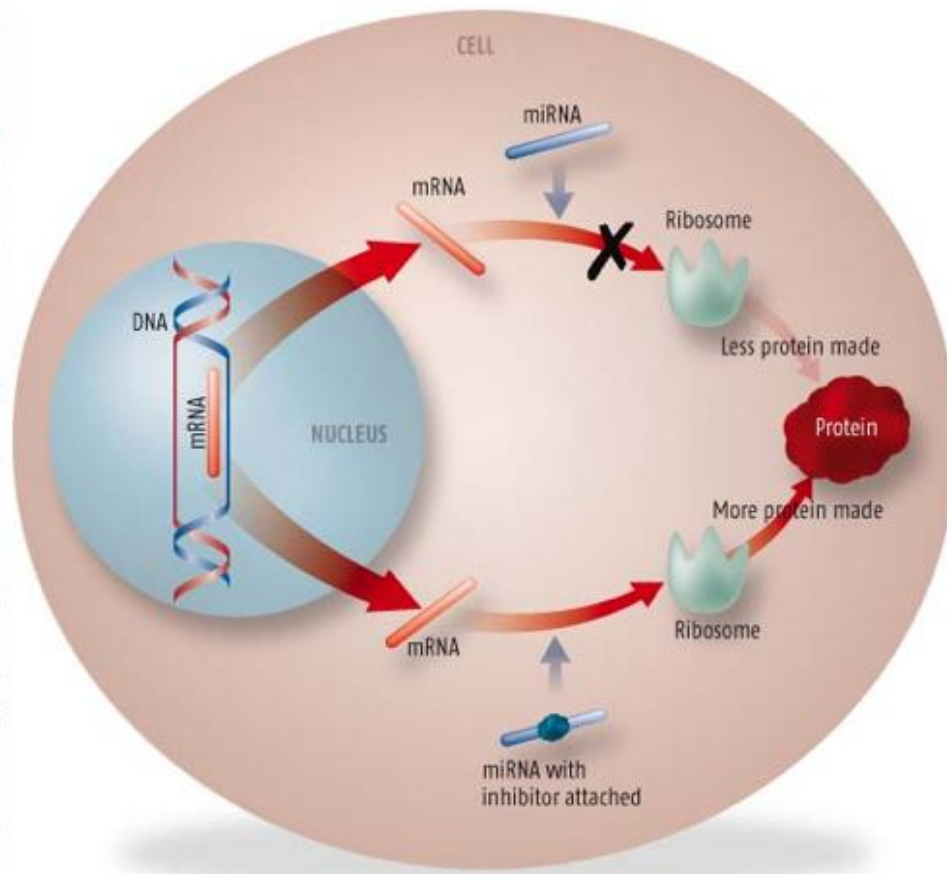




Диагностика повреждения миокарда при ишемии/реперфузии по циркулирующим микроРНК



Антагомиры



Антагомиры – новый класс химически синтезированных олигонуклеотидов, используемых для блокирования (сайлансинга -silencing) микроРНК. Антагомиры представляют собой небольшие синтетические РНК, комплементарные специфическим miRNA. В настоящее время антагомиры используются для активного ингибирования специфических miRNA, например, ингибирование [miR-21](#) для предотвращения развития фиброза легких и сердца.

Основные сложности при разработке лекарственных препаратов на основе микроРНК

- a) Невозможность простого перорального введения – необходимость поиска новых путей инкапсулирования и «упаковывания»
- b) Неустойчивость соединений на основе микроРНК
- c) Необходимость в ряде случаев использовать принцип направленной доставки для увеличения эффективности
- d) Высокая стоимость систем доставки

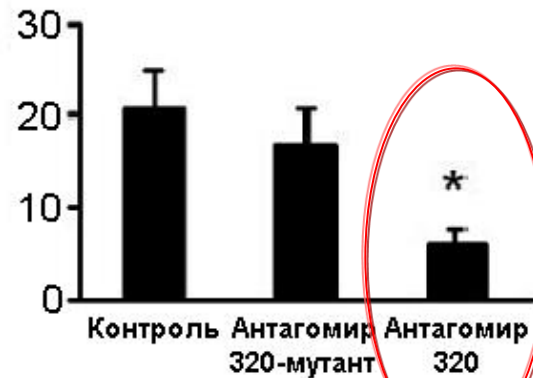
Основные преимущества при разработке лекарственных препаратов на основе микроРНК

- a. Отсутствие антигенных свойств
- b. Высокая специфичность
- c. Отсутствие значимых токсических эффектов

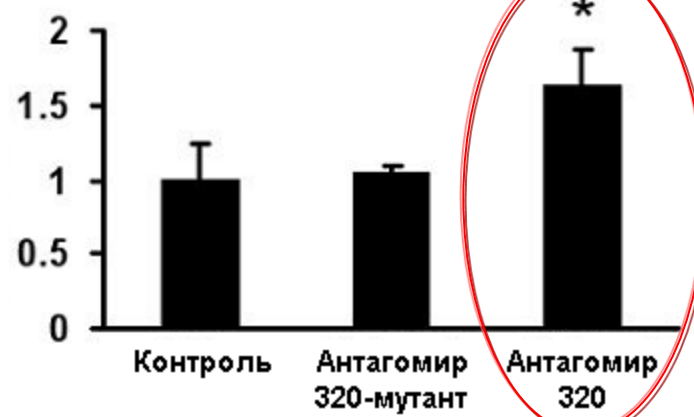
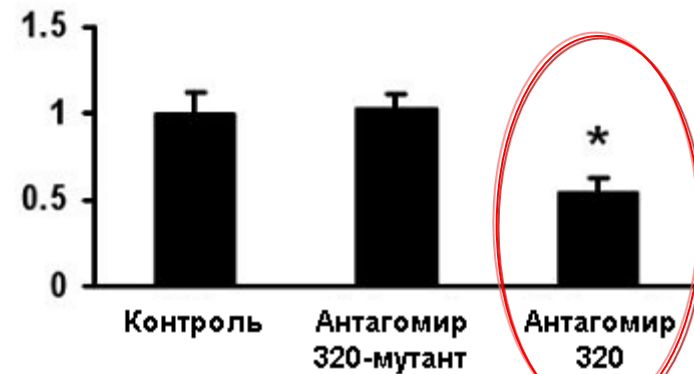
Применение антисенс-микроРНК (антагомир-320) приводит к уменьшению размера инфаркта за счет повышения экспрессии белка теплового шока 20



Влияние антагомира-320 на размер инфаркта и зону риска

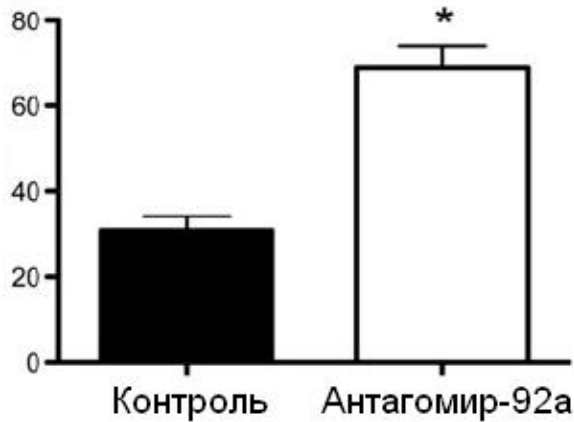
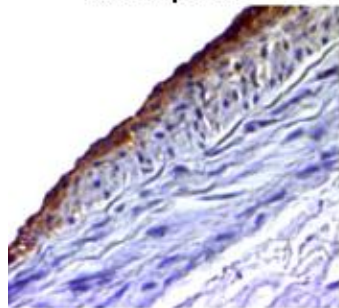
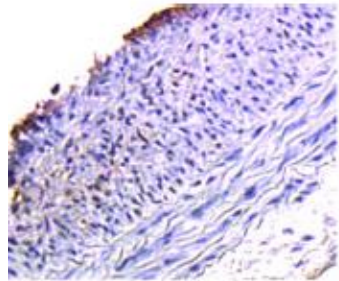


Влияние антагомира-320 на уровень экспрессии микроРНК-320 и БТШ-20

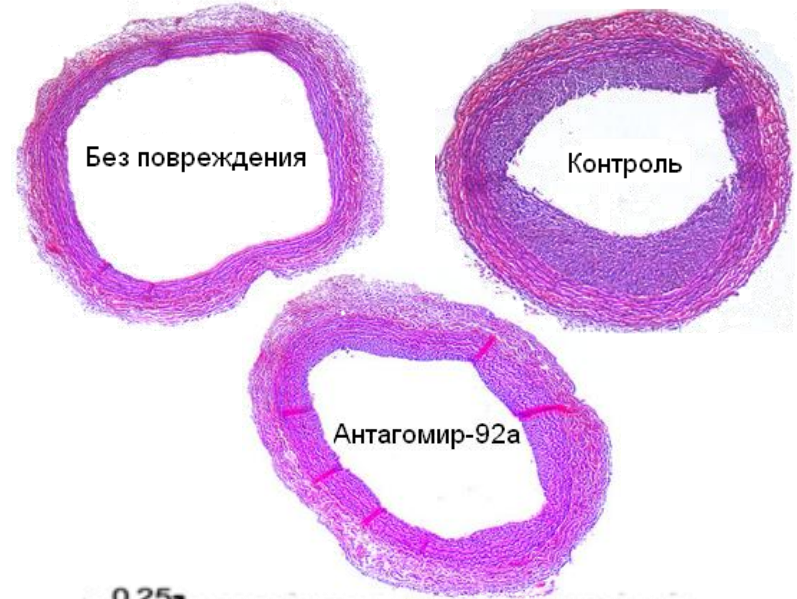


Антагомир-92а способствует эндотелизации и уменьшению формирования неинтимы после баллонного повреждения сонной артерии у крыс

Иммуногистохимия на FVIII через 14 сут. после повреждения



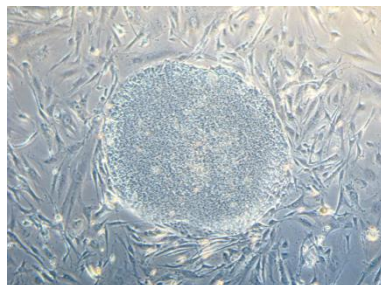
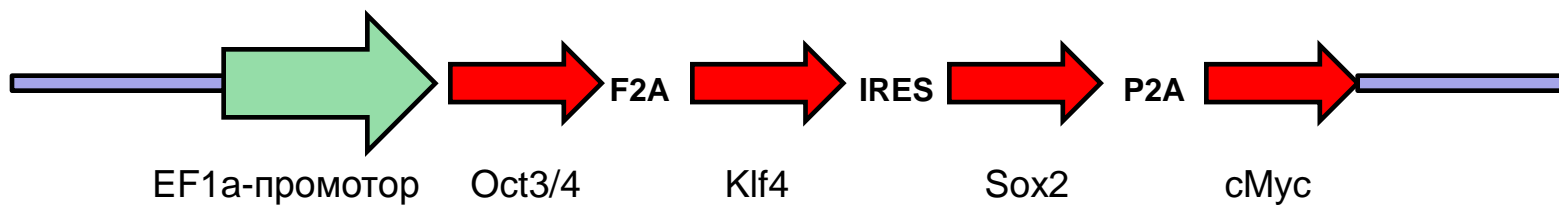
Выраженность неинтимы через 14 сут. после повреждения



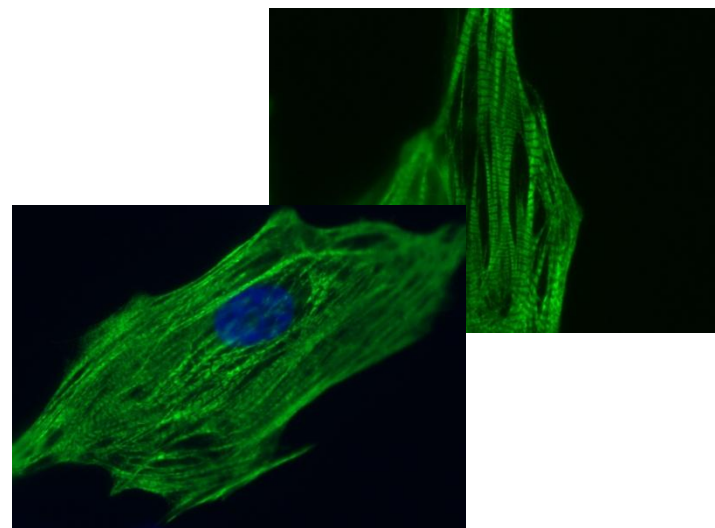


Технология получения индуцированных плюрипотентных клеток человека (iPS)

Вектор, содержащий набор транскрипционных факторов



iPS



Зрелые клетки - КМЦ

Флуоресцентная интравитальная диагностика



От выявления анатомической структуры к молекулярной визуализации

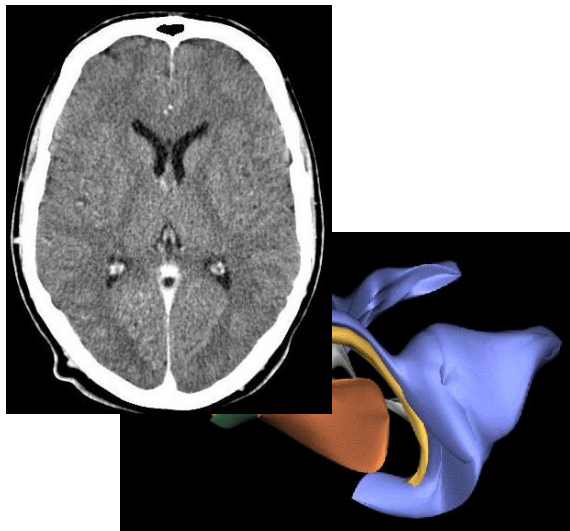
Анатомия



Физиология



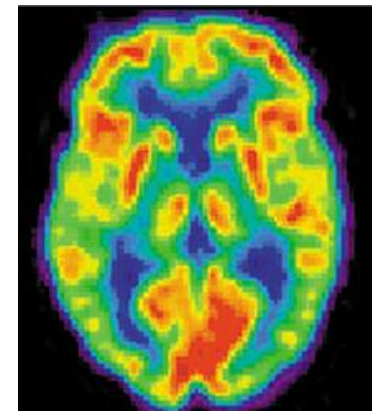
Молекулярная визуализация



- Морфология;
- Морфометрия



- Гемодинамика;
- Проницаемость сосудов;
- Гипоксия/ишемия;
- Активность ЦНС;
- Метаболиты, pH



- Функционирующие рецепторы;
- Специфичные контрасты;
- Фармакокинетика

Структура



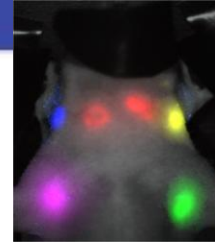
Механизм



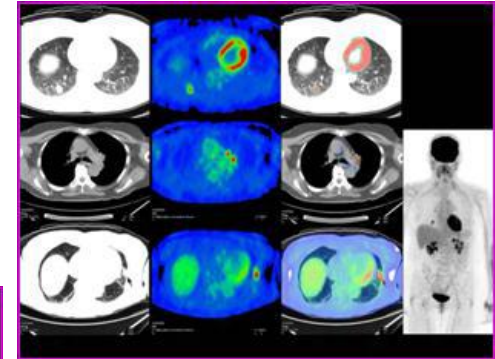
Мишень

Методы молекулярной визуализации

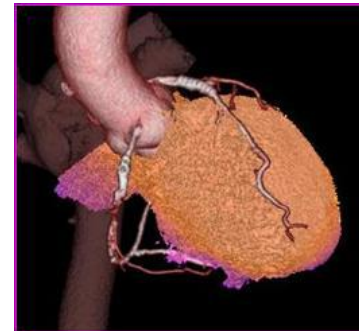
1. Оптическая флуоресценция



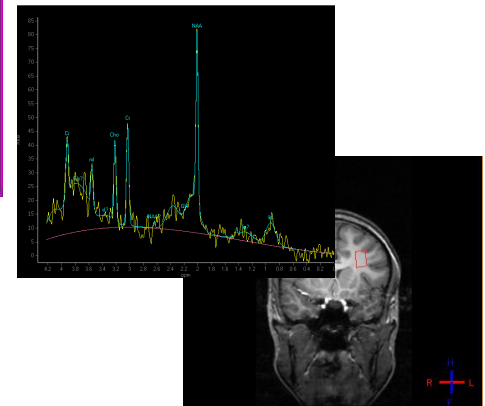
2. Позитронно-эмиссионная томография/
компьютерная томография



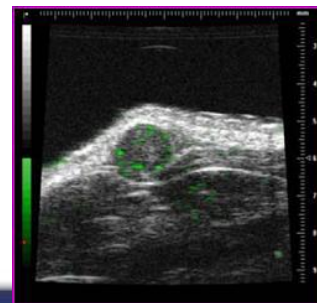
3. Однофотонная эмиссионная
компьютерная томография/
компьютерная томография



4. Магнитно-резонансная спектроскопия

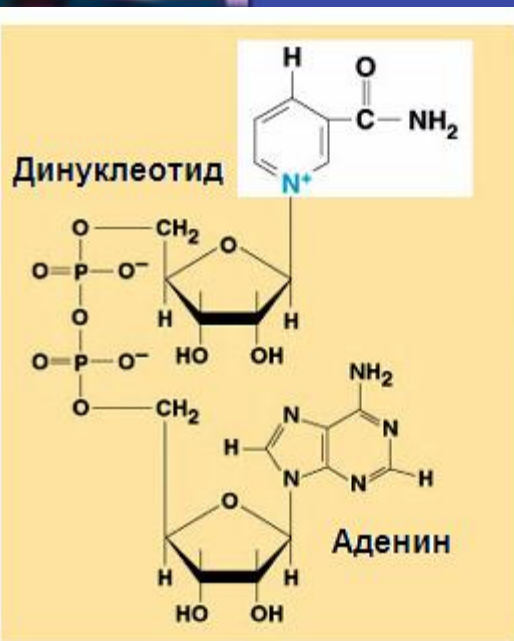


5. Направленный ультразвук





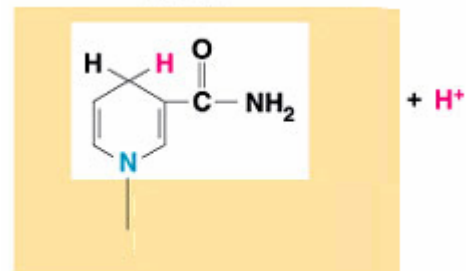
Возникающий при ишемии дисбаланс между NAD и NADH может отражаться на уровне аутофлуоресценции



+ 2[H]
из пищевых
субстратов

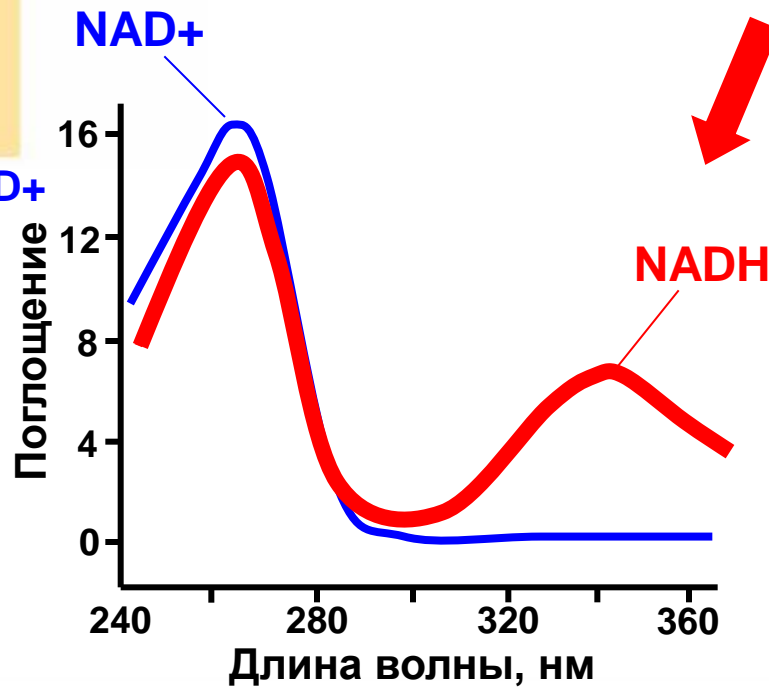
Норма

Ишемия

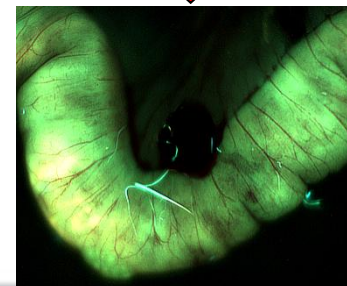


Восстановленная форма: NADH

Окисленная форма: NAD⁺



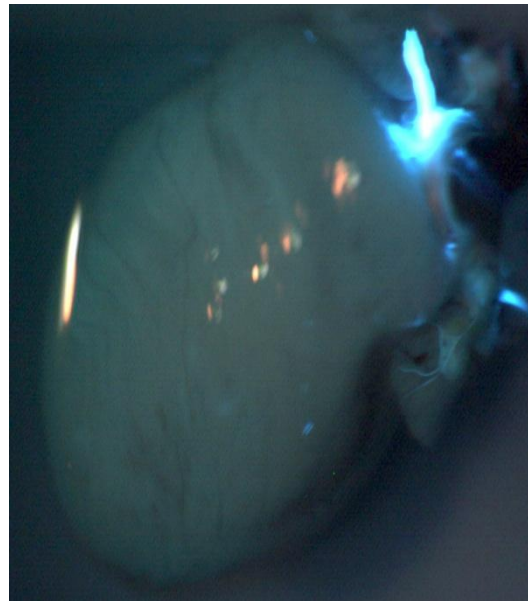
Ишемия



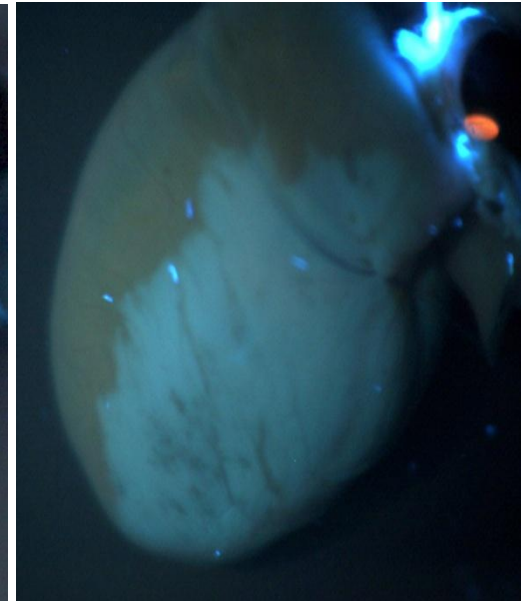


Интраоперационная диагностика жизнеспособности тканей с помощью аутофлуоресцентной органоскопии

1. **Высококчувствительная визуализация ранних стадий ишемического повреждения;**
2. **Возможность интраоперационного мониторинга жизнеспособности тканей**



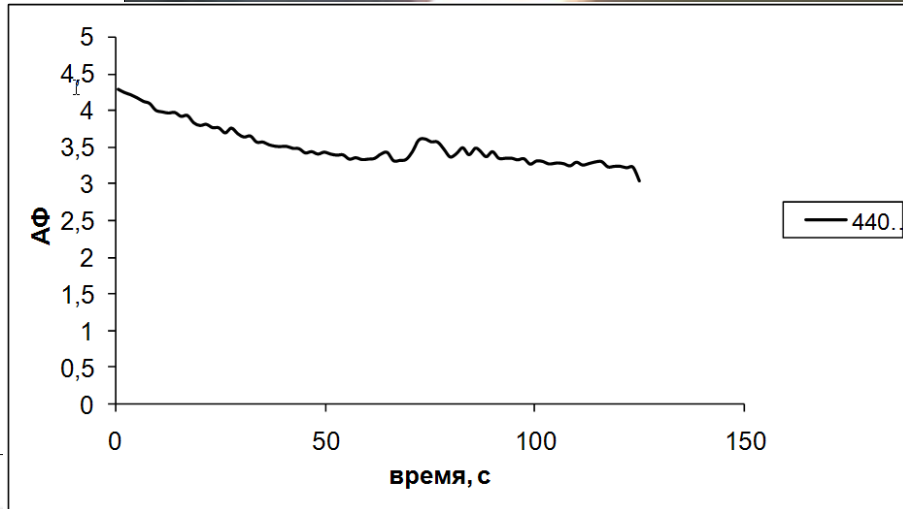
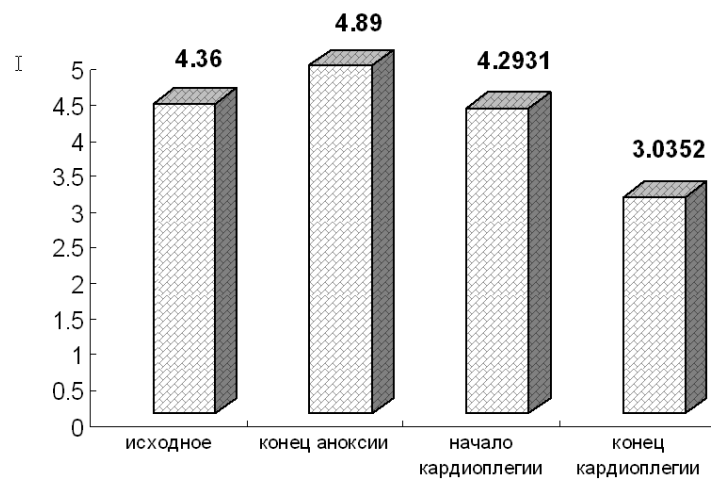
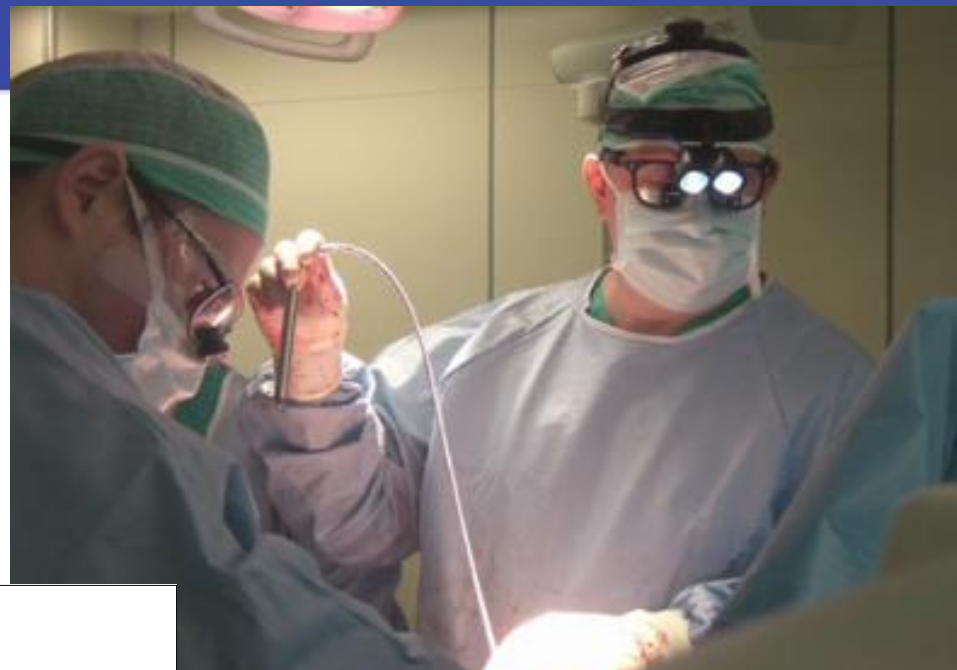
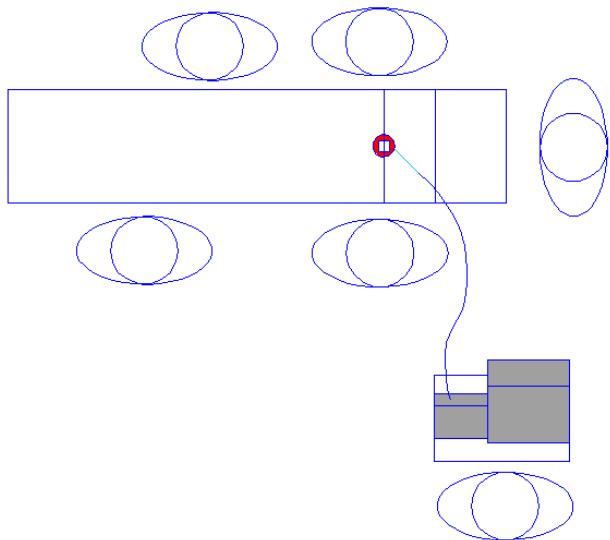
До ишемии



**Через 30 с после
коронарной окклюзии**



Пилотные измерения аутофлуоресценции миокарда в кардиохирургической операционной





Новые медицинские технологии в кардиологии,
разрабатываемые на основе фундаментальных
и клинических исследований

- Методы молекулярно-генетической диагностики и прогнозирования
- **Методы направленной терапии**
- Технологии клеточной терапии

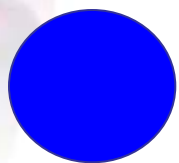


Направленная доставка лекарственных препаратов с помощью наночастиц: *преимущества*

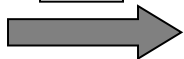
- Уменьшение объема распределения препаратов
- Снижение токсичности препаратов
- Повышение растворимости гидрофобных препаратов
- Повышение стабильности препаратов (белки, пептиды, олигонуклеотиды)
- Улучшение биосовместимости

Алгоритм направленной доставки препаратов в миокард

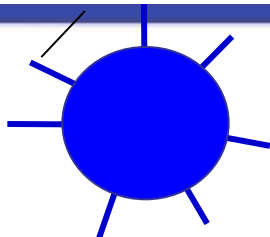
Углеродная или кремнеземная наночастица



1

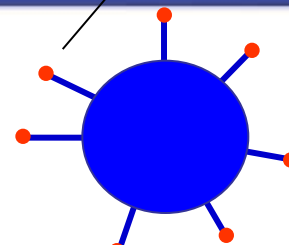


Привитые органические «спейсеры»



Связывание молекулы препарата с функциональными группами (н-р, NH₂)

2



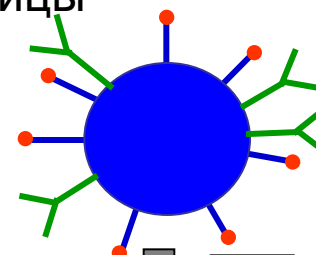
Накопление нагруженных препаратом наночастиц в зоне ишемии

Высвобождение препарата в ходе биodeградации покрытия частицы

Захват ?

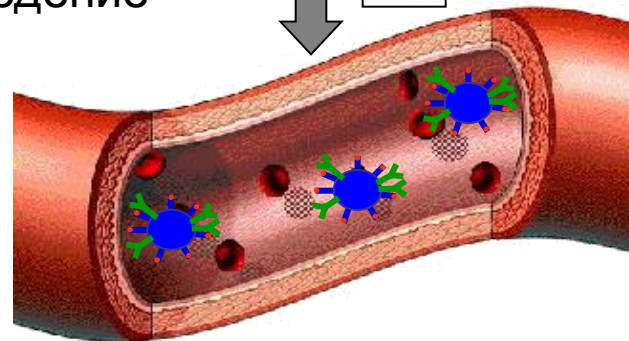
Связывание аннексина V с поверхностью наночастицы

3



Внутривенное введение

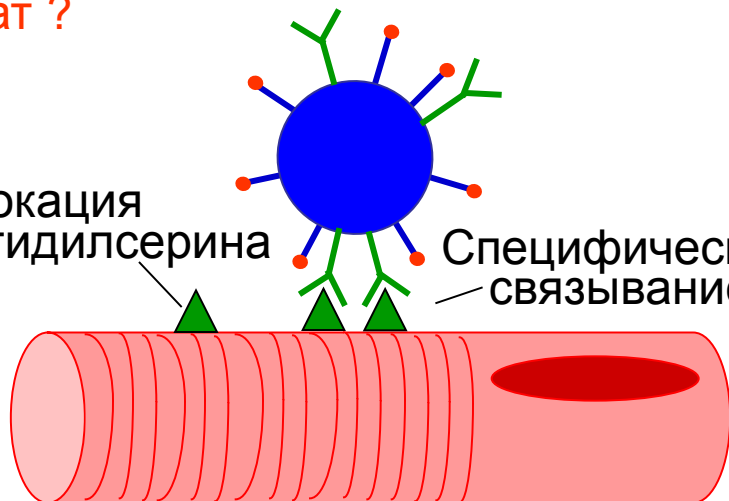
4



Транслокация фосфатидилсерина

Специфическое связывание

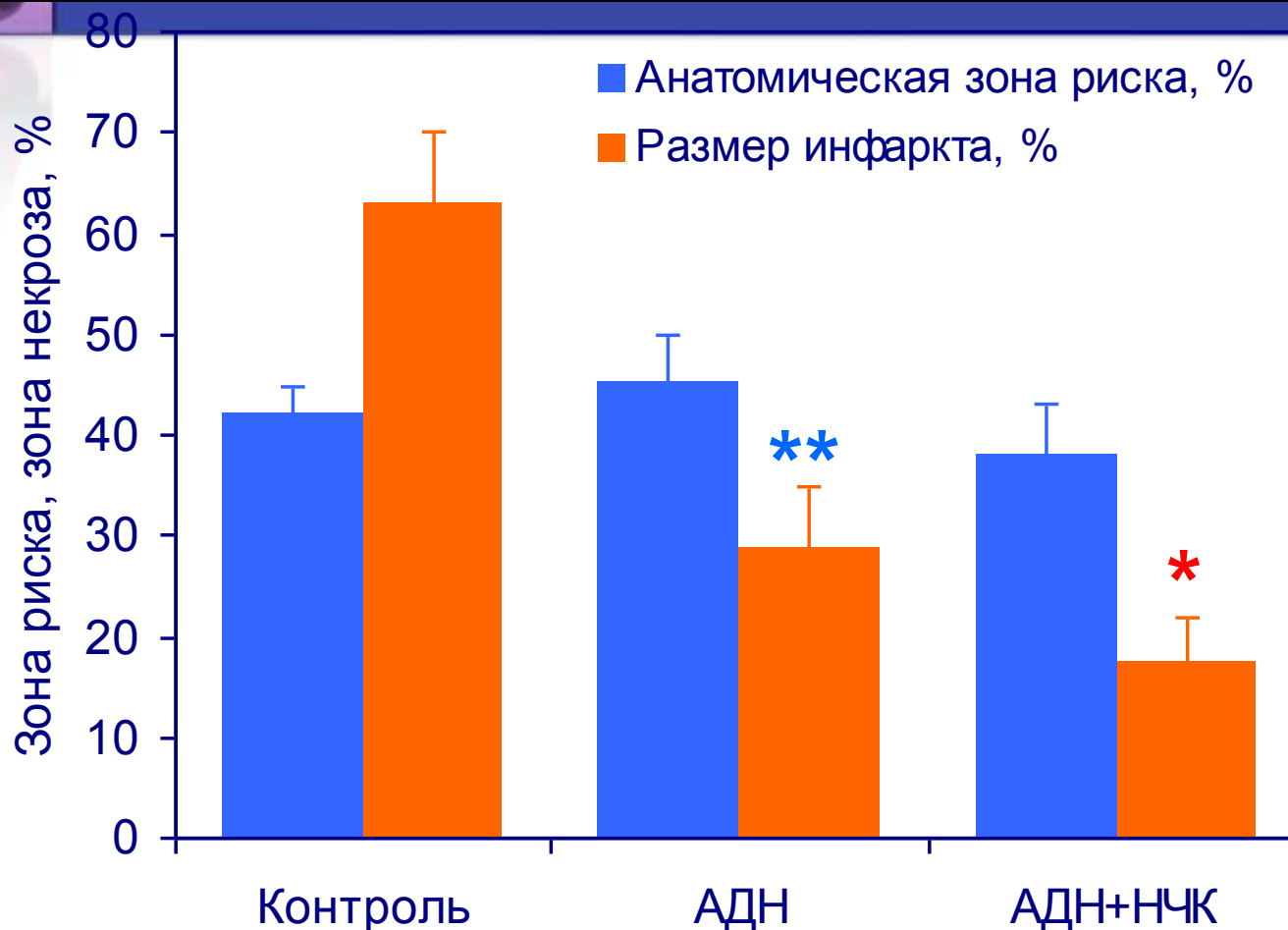
5



Кардиомиоцит (зона ишемии)



Усиление инфаркт-лимитирующего эффекта аденозина при его адсорбционной иммобилизации на поверхности наночастиц кремнезема



** - $p < 0,01$ в сравнении с контролем; * - $p < 0,05$ в сравнении с АДН



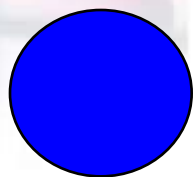
Алгоритм направленной доставки препаратов с помощью магнитных наночастиц

Носитель

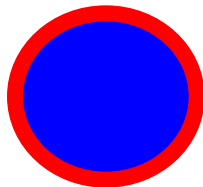
Создание Fe-содержащего покрытия

Прививка «спейсеров»

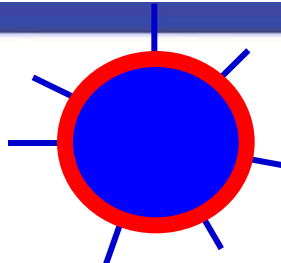
Ковалентное связывание препарата



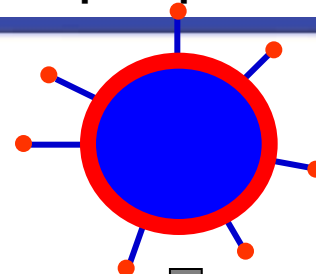
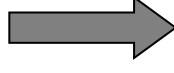
1



2



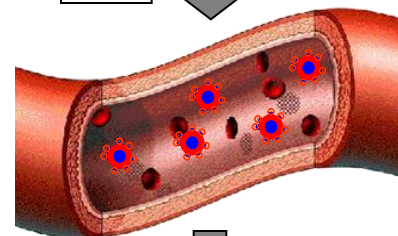
3



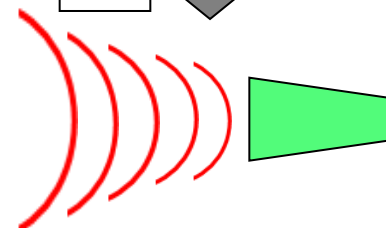
4



Внутривенное введение



5



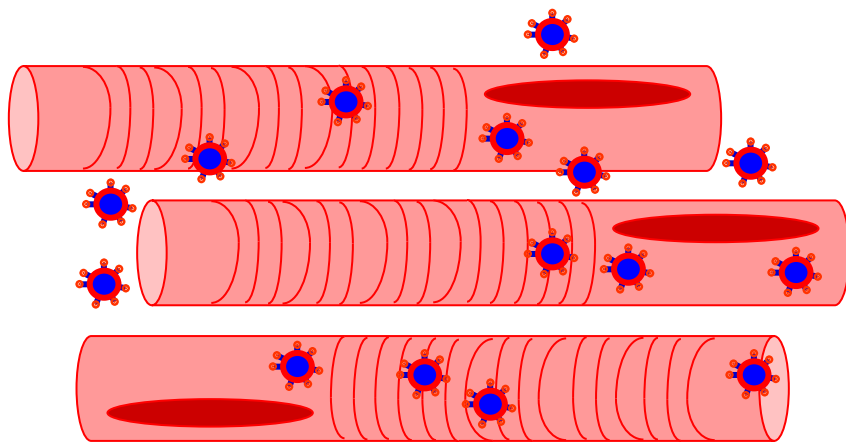
Помещение ишемизированной ткани в электромагнитное поле

6



Накопление нагруженных препаратом наночастиц в зоне ишемии

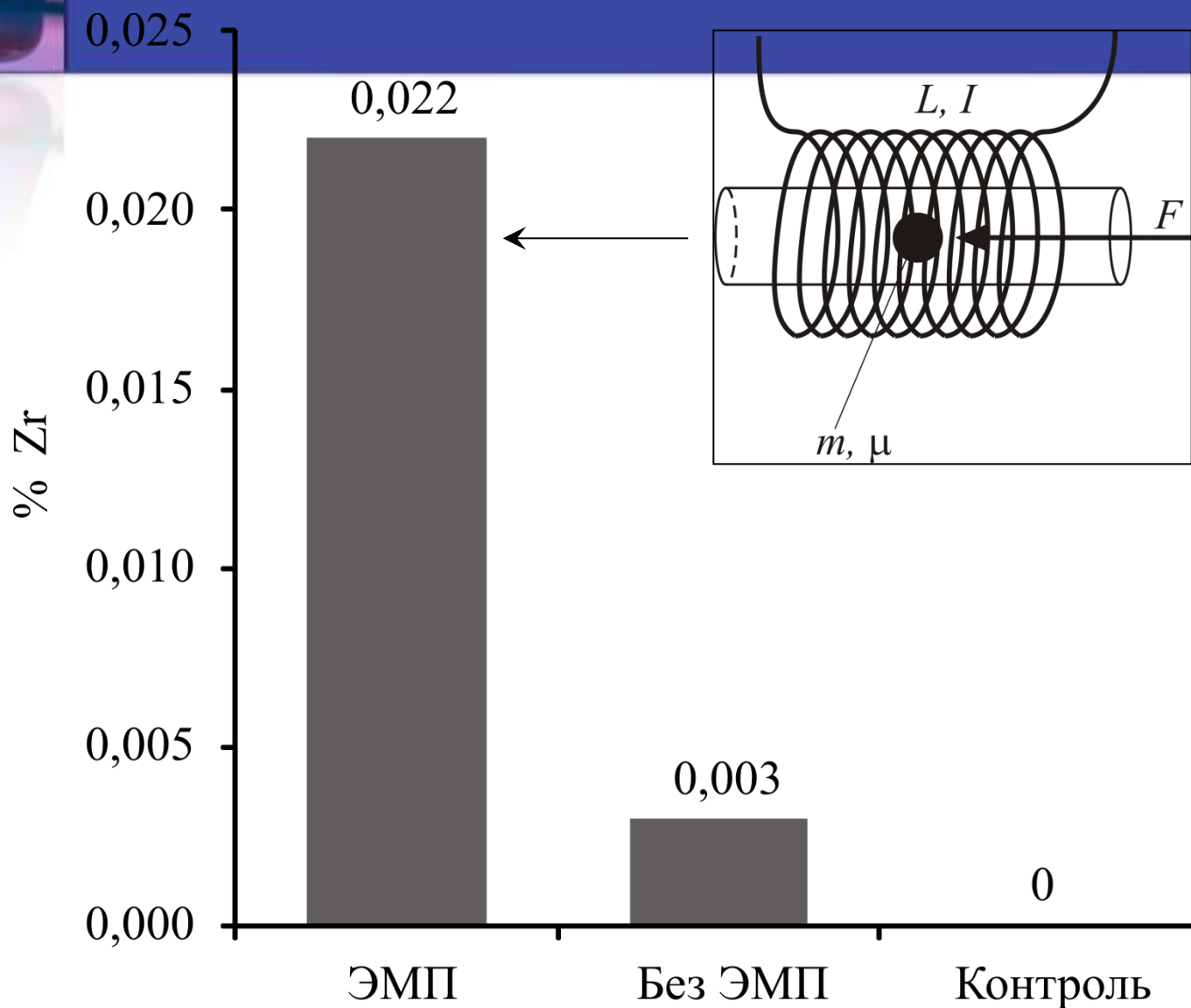
Высвобождение препарата в ходе биodeградации покрытия частицы



Ишемизированная мышечная ткань



Содержание магнитных наночастиц в мышечной ткани после их внутривенного введения в дозе 1 мг/кг





Новые медицинские технологии в кардиологии,
разрабатываемые на основе фундаментальных
и клинических исследований

- Методы молекулярно-генетической диагностики и прогнозирования
- Методы направленной терапии
- **Технологии клеточной терапии**

Исследование функциональных свойств клеток костного мозга больного NM-01



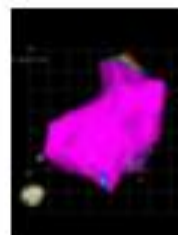
Забор КМ



Выделение МККМ

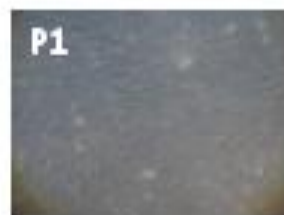


Введение МККМ

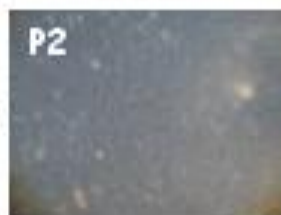


Установление первичной культуры МСК КМ

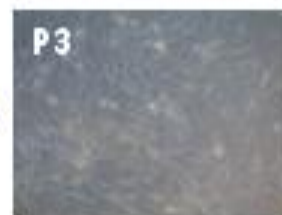
МСК = 0,0045% от МККМ (N = 0,01-0,001%)



P1



P2



P3



P4

Комплексное исследование ключевых свойств МСК КМ в ходе культивирования *in vitro*



Исследование

**«Интрамиокардиальное множественное
прецизионное введение моноклеарных
клеток костного мозга в лечении ишемии
миокарда»**

**“*Intramyocardial Multiple Precision Injection
of Bone Marrow Mononuclear Cells
in Myocardial Ischemia*”**



(акроним: *IMPI*)



Динамика эхокардиографических показателей больного NM-01

	31.01.2011	10.06.2011
Левый желудочек		
КДР ЛЖ, мм	72	69
КДО ЛЖ, мл	260	240
МЖТд/ЗСд, мм	12/12	12/12
ФВ (Simpson VP), %	31	36
Правый желудочек		
КДР ПЖ, мм	34	34
TAPSE, см	1,1	1,1
TRp, мм рт.ст.	38	35



	31.01.2011	10.06.2011
Кардиореспираторный тест (КРТ)		
VO_2 (мл/кг/мин)	17,0	17,3
VO_2 (л/мин)	1,664	1,726
HR/ VO_2 (чсс/мл/кг)	8,1	3,4 (↓)
O_2 пульс (мл/уд)	12,1	13,2 (↑)
ТШХ, м	366	389
NT-proBNP, пг/мл	1149	1448



Эволюция научных исследований

- ✓ Не только рандомизированные контролируемые исследования
- ✓ PCORI - Patient-Centered Outcomes Research Institute – организация исследований, которые регулируются пациентами, врачами и всем медицинским сообществом и обеспечивают высокую целостность, основанную на доказательствах
- ✓ Быстрое внедрение результатов исследований в практику (трансляционная медицина)
- ✓ Обучение трансляционным исследованиям
- ✓ Реформа управления, которая обеспечит безопасность и инновации



«Выживает не самый сильный,
и даже не самый умный;
выживает тот,
кто способен меняться»

Чарльз Дарвин

