

Що таке фармакологія?

СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

У цьому вступному розділі ми висвітлюємо виникнення та еволюцію фармакології як наукової дисципліни й описуємо сучасну структуру предмета обговорення та його зв'язки з іншими медико-біологічними науками. Структуру, що вимальовується, покладено в основу побудови решти книги. Читачі, які поспішають отримати інформацію про сьогодення фармакології просто зараз, можуть пропустити цей розділ без жодних вагань.

ЩО ТАКЕ ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ?

У контексті та для потреб цієї книги лікарський засіб (англ. drug) можна визначити як *хімічну речовину з відомою структурою, на відміну від поживної речовини або незамінного харчового інгредієнта¹, яка при введенні в живий організм чинить біологічну дію.*

Слід наголосити на кількох моментах. Лікарськими засобами можуть бути синтетичні хімічні речовини, хімічні речовини рослинного чи тваринного походження або продукти біотехнологічного походження (біологічні засоби). Ліки (англ. medicine) – це хімічний препарат, який зазвичай, але не обов'язково, містить один або кілька лікарських засобів, що вводять з метою досягнення терапевтичного ефекту. Крім активного засобу, ліки, як правило, містять інші, речовини (допоміжні речовини, стабілізатори, розчинники тощо), що робить їх зручнішими у використанні. Щоб вважатися лікарським засобом, речовина має вводитися як така, а не виділятися за допомогою фізіологічних механізмів. Багато речовин, наприклад інсулін або тироксин, є ендогенними гормонами, але також можуть виступати у ролі лікарських засобів, коли їх вводять цілеспрямовано. Чимало лікарських засобів не дуже широко застосовують у медицині, але, незважаючи на це, вони є корисними інструментами під час досліджень. Визначення лікарського засобу також охоплює токсини, які зазвичай не використовують у клінічній практиці, але які, незважаючи на це, є

важливими фармакологічними інструментами. Англійське слово «drug» перекладається не лише як «лікарський засіб», а і як «наркотик», тому в повсякденному вжитку часто асоціюється з психоактивними речовинами та (нарко)залежністю – прикрий негативний відтінок, який призводить до упередженої необгрунтованої думки щодо будь-якої форми терапії синтетичними ліками. У цій книзі ми зосереджуємо увагу здебільшого на лікарських засобах, використовуваних з терапевтичною метою, а також описуємо психоактивні препарати та наводимо важливі приклади лікарських засобів, які застосовують як інструменти для дослідів. Отрути чітко підпадають під визначення лікарських засобів, та й справді, «все є отрутою і все є ліками, одна лише доза робить речовину отрутою або ліками» (афоризм, авторство якого приписують Парацельсу, швейцарському лікарю XVI ст.); і навпаки, отрути можуть бути ефективними терапевтичними засобами при введенні в субтоксичних дозах. Яскравим прикладом є ботулінічний токсин (розд. 14): це надзвичайно сильна отрута, відома своєю летальною дією, котру, однак, широко застосовують як з медичною, так і з косметичною метою. Загальні аспекти шкідливого впливу лікарських засобів розглянуто в розд. 58. Токсикологія вивчає токсичну дію хімічних речовин (зокрема лікарських), а токсикологічні випробування нових хімічних сполук проводять у процесі їх розробки як потенційних лікарських засобів (розд. 60), але інші аспекти зазначеної теми у цьому виданні не розглянуто.

ВИТОКИ ТА ПОПЕРЕДНИКИ

Фармакологія досліджує вплив лікарських засобів на функції живих систем. Як наука вона зародилася в середині XIX ст. та належала до чималої кількості нових медико-біологічних наук, що виникали в той дивовижний період часу та ґрунтувалися на експериментах, а не на догмах. Здовго до цього – фактично від самого початку існування цивілізації – широко вживали лікарські засоби рослинного походження, укладалися фармакопеї та процвітало ремесло аптекарів. Однак до терапевтичних засобів, які у ті часи називали «*materia medica*»², не застосовували

¹ Як і більшість визначень, це також має свої межі. Наприклад, є низка незамінних харчових компонентів, таких як залізо та різні вітаміни, використовуваних як ліки. Крім того, деякі біологічні засоби (наприклад **епоетин**) демонструють зміну хімічного складу від серії до серії, що суттєво впливає на їхні властивості. Також існує наука, що вивчає поживні речовини фармацевтичного ступеня чистоти, ще відомі як «нутрицевтики».

² Ця назва зберігається й донині в деяких стародавніх університетах, де її використовують на позначення кафедр, які ми б назвали кафедрами клінічної фармакології.

нічого схожого на наукові принципи. Навіть Роберт Бойль (Robert Boyle), який заклав наукові засади хімії в середині XVII ст., маючи справу з терапевтичними засобами («Ліки найкращого вибору» («A Collection of Choice Remedies»), 1692), обмежувався рекомендаціями щодо зілля з черв'яків, гною, сечі та моху, зібраного з черепа мерця. Поштовхом до виникнення фармакології стала потреба у покращенні результатів терапевтичного втручання лікарів, які на той час були кваліфікованими у клінічному спостереженні та діагностуванні, але відверто безпорадними, коли справа доходила до лікування³. Аж до кінця XIX ст. знання про нормальне та патологічне функціонування організму було надто примітивним і слабкорозвиненим, щоб забезпечити бодай якусь грубу основу для розуміння дії лікарських засобів; водночас хвороби та смерть розглядалися як напівсвященні теми, якими належним чином займалися авторитарні, а не наукові доктрини. Клінічна практика часто демонструвала підкорення владі й ігнорувала факти, котрі, як видається, можна було легко довести та перевірити. Наприклад, кору хінного дерева вважали специфічним та ефективним засобом лікування малярії, й обґрунтований протокол її використання склав Джеймс Лінд (James Lind) у 1765 р. Однак у 1804 р. Джозеф Джонсон (Joseph Johnson) заявив, що кора небезпечна, доки не вщухне гарячка, і замість неї на ранніх стадіях рекомендував застосовувати великі дози каломелю (хлориду ртуті) – вбивча порада, якої сліпо дотримувалися впродовж наступних 40 років.

Бажання віднайти розуміння того, на що здатні і не здатні лікарські засоби, походило з клінічної практики, але наука могла спиратися лише на надійні основоположні принципи у фізіології, патології та хімії. Лише у 1858 р. Рудольф Вірхов (Rudolf Virchow) запропонував теорію клітин. Структурну формулу для опису хімічної сполуки вперше було використано у 1868 р. У 1878 р. Луї Пастер (Louis Pasteur) виявив мікроорганізми як причину захворювання. У минулому фармакологія не мала на що спиратися, тому можна лише дивуватися сміливій далекоглядності Рудольфа Бухгайма (Rudolf Buchheim), який у 1847 р. заснував перший інститут фармакології (у власній оселі) в Естонії.

На початку, до появи синтетичної органічної хімії, фармакологія займалася лише пошуком розуміння дії природних речовин, переважно рослинних екстрактів, і кількох (здебільшого токсичних) хімічних речовин, таких як ртуть та арсен. Раннім досягненням у хімії стало очищення активних сполук, отриманих з рослин. Фрідріх Сертюрнер (Friedrich Sertürner), молодий

німецький аптекар, одержав очищений морфін з опію в 1805 р. Невдовзі було отримано й інші речовини, та, хоча їхня структура була невідома, завдяки цим сполукам стало зрозуміло, що саме хімічні речовини, а не магія чи життєво важливі сили, відповідають за вплив рослинних екстрактів на живі організми. Фармакологи-першопрохідці зосереджували увагу переважно на таких лікарських засобах рослинного походження, як хінін, наперстянка, атропін, ефедрин, стрихнін тощо (багато з них використовуються донині й перетворюються для вас на давніх друзів на той момент, коли ви закінчите читати цю книгу)⁴.

ФАРМАКОЛОГІЯ У XX ТА XXI СТОЛІТТЯХ

Починаючи з XX ст., свіжий струмінь синтетичної хімії приніс радикальні зміни у фармацевтичну промисловість, а разом із нею й у фармакологічну науку. Почали з'являтися нові синтетичні лікарські засоби, такі як барбітурати та місцеві анестетики, а доба протимікробної хіміотерапії розпочалася з того, що у 1909 р. Пауль Ерліх (Paul Ehrlich) застосував сполуки арсену для лікування сифілісу. Приблизно в той же час Вільям Блер-Белл (William Blair-Bell) з Ліверпулю зажив всесвітньої слави завдяки своєму новаторському способу лікування раку грудної залози іншою відносно отруйною речовиною – колоїдною сумішшю свинцю. Вчений розмірковував так: лікарські засоби токсичні, але вони трохи токсичніші для мікроорганізму або ракової клітини. Така рання хіміотерапія заклала основи більшості антибактеріальних та протипухлинних методів лікування, використовуваних і сьогодні. Подальшими видатними науковими досягненнями стали відкриття у 1935 р. Герхардом Домагком (Gerhard Domagk) перших протимікробних засобів – сульфаніламідів, а також розроблення під час Другої світової війни Ернстом Чейном (Ernst Chain) та Говардом Флорі (Howard Florey) пеніциліну на основі попередньої роботи Александра Флемінга (Alexander Fleming).

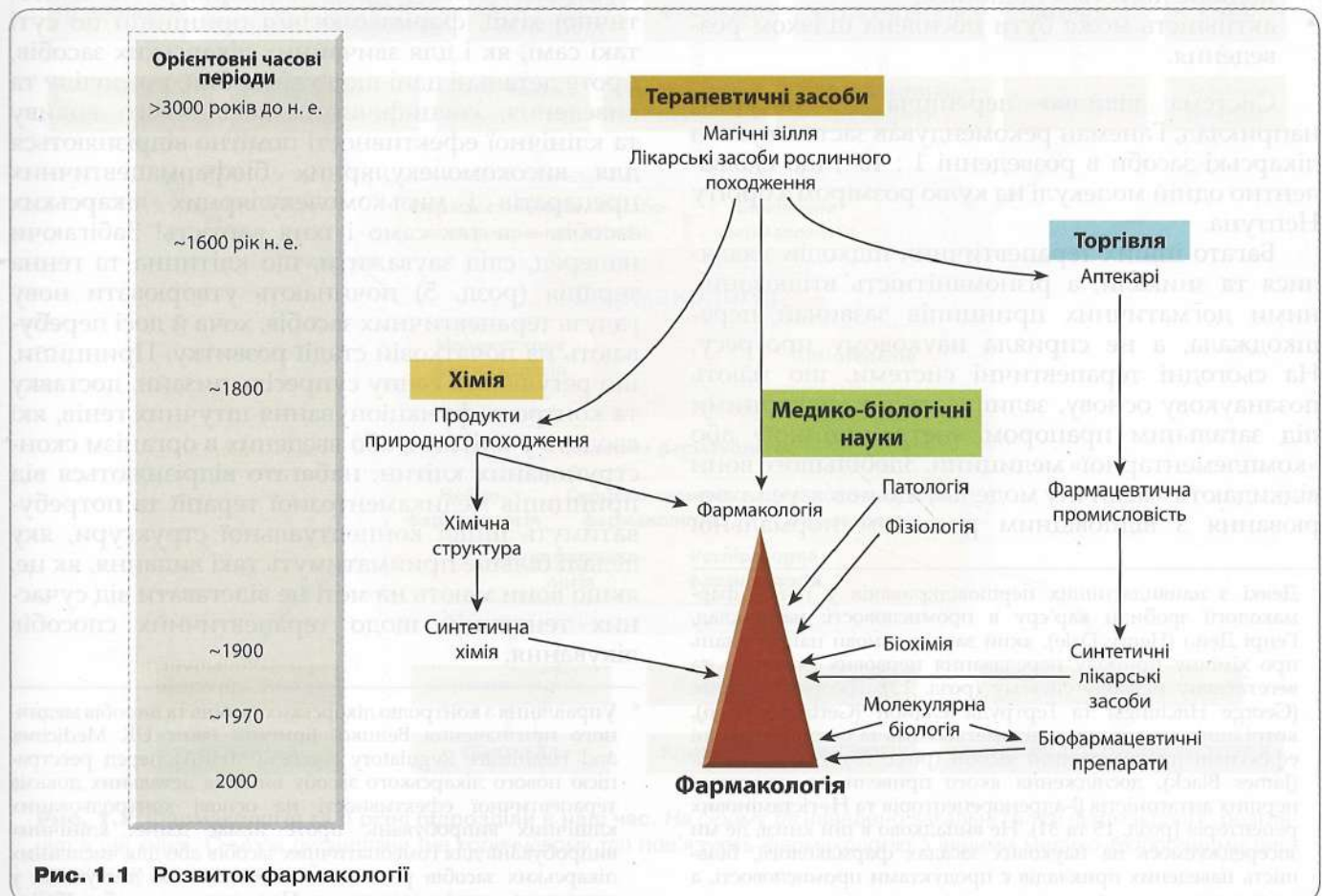
⁴ Деякі синтетичні речовини зажили фармакологічної слави задовго до початку ери синтетичної хімії. Діетилловий ефір, який спершу готували як «солодку купоросну олію» в XVI ст., та закис азоту, одержаний Гамфрі Деві (Humphry Davy) в 1799 р., використовували для розваг під час вечірок, і лише в середині XIX ст. їх почали використовувати як безпечні засоби (див. розд. 42). Амільнітриг (див. розд. 21) було отримано в 1859 р.; він може претендувати на звання першого «раціонального» терапевтичного засобу; терапевтичний ефект амільнітригу при стенокардії прогнозували на основі його фізіологічної дії – це справжній «лікарський засіб фармаколога» та смердючий попередник нітрово-зодилаторів, що набули широкого вжитку в наш час. Аспірин (розд. 27), найбільш широко використовуваний терапевтичний засіб в історії людства, вперше синтезували в 1853 р. без жодних намірів щодо терапевтичного застосування. Повторно його було відкрито у 1897 р. у лабораторіях німецької компанії «Баєр» (Bayer) у пошуках менш токсичної похідної саліцилової кислоти. Компанія «Баєр» вивела аспірин на ринок у 1899 р. та збагатилася.

³ Олівер Венделл Голмс (Oliver Wendell Holmes), видатний лікар, у 1860 р. писав: «[Я] твердо переконаний, що якби вся *materia medica* в тому вигляді, у якому її застосовують у наш час, пішла на дно моря, тим було б краще для людства та гірше для риб» (див.: Porter, 1997).

Такі добре відомі приклади показують, як розвиток синтетичної хімії та відродження хімії природних продуктів спричинили різке поживлення в галузі терапевтичних засобів у першій половині ХХ ст. Кожен новий клас лікарських засобів, що з'являвся, ставав новим викликом для фармакологів, і саме тоді фармакологія справді отримала свої відмітні риси та статус серед медико-біологічних наук.

Паралельно зі стрімким розповсюдженням «терапевтичних» молекул, керованим переважно хімією, що дало фармакологам чимало приводів для роздумів, швидкий прогрес також відбувався й у фізіології, особливо в тій її галузі, що стосувалася хімічних медіаторів, які детально висвітлено в цій книзі. У цей період було відкрито багато гормонів, нейротрансмітерів (нейромедіаторів) та медіаторів запалення, а усвідомлення того, що хімічний зв'язок відіграє центральну роль майже в кожному регуляторному механізмі, який мають наші тіла, одразу створило велику спільну галузь між фізіологією та фармакологією, оскільки взаємодії між хімічними речовинами та живими системами захоплювали всю увагу фармакологів від самого початку. Справді, розвиток цих галузей відбувався в тісному зв'язку, оскільки скрізь, де наявний будь-який фізіологічний або патологічний механізм, фармакологія могла використовувати його для своїх потреб за допомогою лікарського засобу.

Концепцію рецепторів для хімічних медіаторів, вперше запропоновану Джоном Ленглі (John Langley) в 1905 р., швидко прийняли такі фармакологи, як Альфред Кларк (Alfred Clark), Джон Гаддум (John Gaddum), Хайнц Шильд (Heinz Schild) та інші; вона є постійною темою сучасної фармакології (ви це побачите, коли читатимете два наступні розділи). Концепція рецепторів і технології, розроблені на її основі, мали значний вплив на відкриття лікарських засобів та методи лікування. Біохімія як окрема наука також виникла на початку ХХ ст., а відкриття ферментів та розмежування біохімічних шляхів створили ще одну структуру для розуміння ефекту лікарських засобів. Схематичне зображення розвитку фармакології, що впливає з цього короткого погляду на історію (рис. 1.1), показує її еволюцію від давніх донаукових терапевтичних засобів, зв'язок із торгівлею починаючи з ХVII ст. й донині та набуття респектабельності, коли вона отримала атрибути науки, щойно це стало можливим у середині ХІХ ст. Фармакологія швидко розвивалася у партнерстві з еволюцією органічної хімії та інших медико-біологічних наук і швидко пристосувалася до своїх потреб значні досягнення в молекулярній та клітинній біології наприкінці ХХ ст. Досі можна спостерігати ознаки минулої фармакології як «чужинки», оскільки фармацевтична промисловість перетворилася на дуже великий прибутковий бізнес,



і багато фармакологічних досліджень у наш час проводять у комерційному середовищі, більш грубому та прагматичному місці, ніж наукові кола⁵. Жодна інша медико-біологічна «-логія» ще не була настільки близькою до Мамони.

АЛЬТЕРНАТИВНІ ТЕРАПЕВТИЧНІ ПРИНЦИПИ

Сучасна медицина значною мірою покладається на лікарські засоби як головний інструмент лікування. Звичайно, важливі й інші терапевтичні процедури, такі як хірургічне втручання, дотримання певного раціону харчування, фізичні вправи, психологічне лікування тощо, як і навмисне невтручання, але жодну з них не застосовують настільки широко, як медикаментозне лікування.

До появи науково-орієнтованих підходів неодноразово було здійснено спроби побудувати класифікацію терапевтичних підходів, багато з яких дали навіть гірші результати, ніж чистий емпіричний підхід. Однією з таких спроб була *алопатія*, яку активно просував Джеймс Грегорі (James Gregory, 1735–1821). Перевагу віддавали таким способам лікування, як кровопускання, блювотні та проносні засоби, які використовували доти, доки не вдавалося придушити основні симптоми захворювання. Багато пацієнтів помирили від такого лікування, і саме у відповідь на нього на початку XIX ст. Самуель Ганеман (Samuel Hahnemann) заснував *гомеопатію*. Наймовірні керівні принципи гомеопатії такі:

- подібне лікується подібним;
- активність може бути посилена шляхом розведення.

Система швидко перейшла до абсурду: наприклад, Ганеман рекомендував застосовувати лікарські засоби в розведенні 1 : 10⁶⁰, що еквівалентно одній молекулі на кулю розміром з орбіту Нептуна.

Багато інших терапевтичних підходів з'являлися та зникали, а різноманітність втілюваних ними догматичних принципів зазвичай перешкождала, а не сприяла науковому прогресу. На сьогодні терапевтичні системи, що мають позанаукову основу, залишаються популярними під загальним прапором «нетрадиційної» або «комплементарної» медицини. Здебільшого вони відкидають «медичну модель», що пов'язує захворювання з відповідним розладом нормальної

функції, який можна визначити у фізіологічному чи структурному плані, виявити об'єктивними методами та на який можна здійснити цілющий вплив відповідними хімічними чи фізичними втручаннями. Натомість вони зосереджуються здебільшого на суб'єктивному нездужанні, яке може бути пов'язане або не пов'язане із захворюванням. Відмова від об'єктивності у визначенні та вимірюванні захворювання супроводжується подібним відступом від наукових принципів оцінювання терапевтичної ефективності та ризику, в результаті чого принципи та практики можуть отримати схвалення й прийняття, не задовольняючи жодного з критеріїв валідності, які б переконали вченого, схильного до критичного мислення, і які за законом мають задовольнятися, перш ніж новий лікарський засіб може бути введений у терапію. На жаль, попит широкої громадськості на «нетрадиційні» методи лікування має мало спільного з очевидною доказовою ефективністю⁶.

ПОЯВА БІОТЕХНОЛОГІЙ

З 1980-х років біотехнологія перетворилася на основне джерело нових терапевтичних засобів у формі антитіл, ферментів та різних регуляторних білків, зокрема гормонів, факторів росту та цитокінів (див.: Clark & Pazdernik, 2015). Хоча відповідно до усталеної практики такі продукти (відомі як *біофармацевтичні лікарські препарати*, *біологічні лікарські засоби* або *біопрепарати*) виробляють методом генної інженерії, а не синтетичної хімії, фармакологічні принципи по суті такі самі, як і для звичайних лікарських засобів, проте детальні дані щодо абсорбції, розподілу та виведення, специфічності, шкідливого впливу та клінічної ефективності помітно відрізняються для високомолекулярних біофармацевтичних препаратів і низькомолекулярних лікарських засобів – а так само і їхня вартість! Забігаючи наперед, слід зауважити, що клітинна та генна терапія (розд. 5) починають утворювати нову галузь терапевтичних засобів, хоча й досі перебувають на початковій стадії розвитку. Принципи, що регулюють генну супресію, дизайн, доставку та контроль функціонування штучних генів, які вводять у клітини, або введених в організм сконструйованих клітин, набагато відрізняються від принципів медикаментозної терапії та потребуватимуть іншої концептуальної структури, яку дедалі більше прийматимуть такі видання, як це, якщо вони мають на меті не відставати від сучасних тенденцій щодо терапевтичних способів лікування.

⁵ Деякі з найвидатніших першовідкривачів у галузі фармакології зробили кар'єру в промисловості: наприклад, Генрі Дейл (Henry Dale), який заклав основи наших знань про хімічну природу передавання нервових імпульсів та вегетативну нервову систему (розд. 13); Джордж Гітчінгс (George Hitchings) та Гертруда Елайон (Gertrude Elion), котрі описали принцип антиметаболітів та створили перші ефективні протипухлинні засоби (розд. 57); Джеймс Блек (James Black), дослідження якого привели до створення перших антагоністів β-адренорецепторів та H₂-гістамінових рецепторів (розд. 15 та 31). Не випадково в цій книзі, де ми зосереджуємось на наукових засадах фармакології, більшість наведених прикладів є продуктами промисловості, а не природи.

⁶ Управління з контролю лікарських засобів та виробів медичного призначення Великої Британії (англ. UK Medicines and Healthcare Regulatory Agency, MHRA) перед реєстрацією нового лікарського засобу вимагає детальних доказів терапевтичної ефективності на основі контрольованих клінічних випробувань, проте немає даних клінічних випробувань для гомеопатичних засобів або для численних лікарських засобів рослинного походження, доступних у продажу до прийняття закону «Про лікарські засоби» 1968 р.

ФАРМАКОЛОГІЯ В НАШ ЧАС

Як і в інших медико-біологічних дисциплінах, межі фармакології чітко не визначені та не є постійними. Її представники, як і належить прагматикам, завжди готові увійти на територію та привласнити методи і прийоми інших дисциплін. Якщо фармакологія колись і мала концептуальне й технічне ядро, яке справді могла назвати своїм, то нині воно зменшилося майже до межі зникнення, а предмет радше визначається її метою – зрозуміти, що лікарські засоби роблять з живими організмами, а конкретніше – як їхню дію можна застосувати в лікуванні конкретних захворювань, – аніж її науковою обґрунтованістю.

На рис. 1.2 зображено структуру фармакології у наш час. Основний предмет охоплює низку підрозділів (нейрофармакологія, імунофармакологія, фармакокінетика тощо), які є зручними, хоч і не завжди беззаперечними. Ці теми становлять основний предмет вивчення цієї книги. З фармакологією межують та взаємодіють кілька дисциплін, що розглядаються в цій книзі, але утворюють важливі мости між фармакологією та іншими галузями біомедицини. У фармакології їх більше, ніж в інших дисциплінах. Фармакогеноміка, фармакоепідеміологія та фармакоеконіміка є найновішими суміжними дисциплінами.

Фармакогеноміка. Фармакогенетика, наука про генетичний вплив на реакції на лікарські засоби, спочатку була зосереджена на сімейних ідіосинкратичних реакціях на лікарські препарати, коли уражені особи виявляли атипову чи патологічну – зазвичай побічну – реакцію на клас лікарських засобів (див.: Nebert & Weber, 1990). Під новим брендом фармакогеноміки у наш час вона охоплює ширші генетично детерміновані варіації реакцій на лікарські засоби, генетична основа яких є складнішою, при цьому мета полягає у використанні генетичної інформації для керування вибором лікарської терапії на індивідуальній основі – так звана персоналізована медицина (розд. 12). Основний принцип такий: різницю в реакції людей на терапевтичні засоби можна передбачити за генетичним профілем. Кількість прикладів, що підтверджують цей принцип, постійно зростає (див. розд. 12). Поки що здебільшого йдеться про генетичний поліморфізм ферментів або рецепторів, що метаболізують лікарські засоби. Зрештою, завдяки пов'язуванню конкретних варіацій гена із варіаціями терапевтичних або небажаних ефектів певного лікарського засобу стає можливим добирання варіантів терапії на основі генотипу людини. Постійна оптимізація вартості та практичної здійсненності індивідуального



Рис. 1.2 Фармакологія та її різні підрозділи в наш час. На сірому тлі наведено загальні галузі фармакології, розглянуті в цій книзі. Суміжні дисципліни (на коричневому тлі) пов'язують фармакологію з іншими медико-біологічними дисциплінами (на зеленому тлі)

генотипування збільшить його застосовність, що може мати далекосяжні наслідки для терапевтичних засобів (див. розд. 12).

Фармакоепідеміологія. Це наука про вплив лікарського засобу на популяційному рівні (див.: Strom et al., 2013). Вона вивчає мінливість впливу лікарських засобів між окремими особами в популяції та між популяціями. Для регуляторних органів, які вирішують, чи можна реєструвати нові лікарські засоби для терапевтичного застосування, ця тема стає дедалі важливішою. Мінливість між окремими людьми чи популяціями применшує цінність лікарського засобу, хоча загальний рівень його дії може бути задовільним. Фармакоепідеміологічні дослідження також враховують дотримання пацієнтами режиму і схеми терапії та інші фактори, застосовні, коли лікарський засіб використовують у реальних умовах.

Фармакоекономіка. Ця галузь економіки охорони здоров'я має на меті кількісне визначення економічних аспектів вартості та користі застосовуваних з терапевтичною метою лікарських засобів. Її виникненню сприяла зацікавленість багатьох урядів у забезпеченні охорони здоров'я за рахунок податкових надходжень, внаслідок чого поставало питання про те, які терапевтичні процедури пропонують найкраще співвідношення ціни та якості. Звичайно, це породжує запеклі суперечки, оскільки зрештою все зводиться до того, щоб надати грошову оцінку здоров'ю та довголіттю. Як і у випадку з фармакоепідеміологією, регуляторні органи все частіше вимагають економічного аналізу, а також доказів індивідуальної вигоди при прийнятті рішень про реєстрацію лікарських засобів. Додаткову інформацію про цю складну тему див. у роботі: Rascati, 2013.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Clark, D.P., Pazderink, N.J., 2015. *Biotechnology*. Elsevier, New York. (Загальний огляд біотехнології та її потенційних застосувань.)
- Nebert, D.W., Weber, W.W., 1990. *Pharmacogenetics*. In: Pratt, W.B., Taylor, P. (Eds.), *Principles of Drug Action*, third ed. Churchill Livingstone, New York. (Детальний звіт про генетичні фактори, що впливають на реакції на лікарські засоби, із багатьма прикладами з прегеномних літературних джерел.)
- Porter, R., 1997. *The Greatest Benefit to Mankind*. Harper-Collins, London. (Чудовий та добре написаний опис історії медицини, з належним висвітленням раннього розвитку фармакології та фармацевтичної промисловості.)
- Rascati, K.L., 2013. *Essentials of Pharmacoeconomics*, second ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. (Ознайомлення зі складною та непростю темою.)
- Strom, B.L., Kimmel, S.E., Hennessy, S., 2013. *Textbook of Pharmacoepidemiology*, second ed. Wiley, Chichester. (Книга колективу авторів, що висвітлює всі аспекти дисципліни, яка виникла нещодавно, зокрема аспекти фармакоекономіки.)

Методи вимірювання у фармакології

СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

У розділах 2–5 ми підкресливали, що лікарські засоби є молекулами і діють шляхом взаємодії з іншими молекулами. Ця взаємодія може призводити до ефектів на всіх рівнях організації живої матерії, від молекулярного до популяційного¹.

Ґаддум (Gaddum), що є новатором у галузі фармакології, в 1942 р. висловив таку думку: «Наукова дисципліна має достатній потенціал лише тоді, коли піддається кількісному визначенню». У цьому розділі ми розглянемо принципи вимірювання на різних організаційних рівнях, від лабораторних методів до клінічних досліджень. Оцінка впливу лікарських засобів на популяційному рівні – це завдання фармакоепідеміології та фармакоекономіки (див. розд. 1), дисциплін, вивчення яких виходять за межі цього підручника.

Спочатку розглянемо загальні принципи біоаналізу та його застосування в дослідженнях за участі людей; опишемо моделі досліджень на тваринах для подолання прогностичного розриву між патофізіологією тварин та хворобами людини; потім обговоримо аспекти клінічних випробувань, що використовуються для оцінки терапевтичної ефективності в клінічних умовах; нарешті розглянемо принципи співвідношення користі та ризику. Планування експерименту та статистичний аналіз мають вирішальне значення для інтерпретації всіх типів фармакологічних даних. Кірквуд (Kirkwood) та Стерн (Sterne) (2003) написали чудову вступну частину.

БІОАНАЛІТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Біоаналіз, який визначається як оцінка концентрації або активності речовини шляхом вимірювання біологічної відповіді, що викликається нею, зіграв ключову роль у розвитку фармакології. Кількісне визначення ефектів лікарських препаратів з використанням біоаналізу необхідно для порівняння властивостей різних речовин або однієї і тієї ж речовини за різних умов. Воно використовується:

- для вимірювання фармакологічної активності нових речовин або хімічно невизначених речовин;
- для дослідження функції ендогенних медіаторів;

- для вимірювання токсичності лікарських засобів та їх небажаних ефектів.

▼ Біоаналіз відіграє ключову роль у розробці нових лікарських засобів, що обговорюються в розд. 60.

Використання біоаналізу для вимірювання концентрації ліків та інших активних речовин у крові або в інших рідинах організму, що раніше було складною технологією, на сьогодні значною мірою замінено методами аналітичної хімії.

Багато гормонів та хімічних медіаторів було виявлено завдяки їх біологічним ефектам. Наприклад, здатність екстрактів задньої долі гіпофіза спричиняти підвищення артеріального тиску та скорочення матки спостерігалася на початку ХХ ст. Процедури кількісного аналізу, засновані на цих видах дії, дозволили розробити стандартний препарат на основі екстракту, який був затверджений під час підписання міжнародної угоди в 1935 р. При використанні цих процедур було продемонстровано, що два різних пептиди – вазопресин та окситоцин – мають вкрай важливе значення, в кінцевому підсумку вони були ідентифіковані та синтезовані в 1953 р. Біоаналіз вже багато в чому сприяв отриманню знань про те, що стосується синтезу, накопичення та вивільнення гормонів, він також зіграв важливу роль в їх очищенні та ідентифікації. На сьогодні вже не потрібно проводити трудомісткі лабораторні біоаналізи протягом 50 років, щоб ідентифікувати нові гормони, перш ніж будуть визначені їх хімічні властивості², однак у цілому біоаналіз, як і раніше, має важливе значення. Ріст числа біофармацевтичних препаратів (див. розд. 5), зареєстрованих в якості терапевтичних засобів, що спостерігається на сьогодні, пояснюється застосуванням методів біоаналізу та розробки стандартизованих лікарських засобів. Біофармацевтичні препарати, незалежно від того, з природних джерел вони отримані (наприклад, моноклональні антитіла, вакцини) або з використанням технології рекомбінантної ДНК (наприклад еритропоетин), як правило, різняться від партії до партії, та їх необхідно стандартизувати щодо показників біологічної активності. Наприклад, різні профілі глікозилювання, які не виявляються методами імуноаналізу, можуть впливати на біологічну активність.

ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ БІОАНАЛІТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

На сьогодні важливою галуззю застосування біоаналізу є надання інформації, яка дозволить прогнозувати ефекти лікарського препарату в клінічній ситуації (при цьому метою є вдосконалення функції при проведенні терапії пацієнтів, які страждають від наслідків захворювання).

¹ Розглянемо вплив кокаїну на організовану злочинність, вплив фосфорорганічних «нервово-паралітичних газів» на стабільність диктаторських режимів або вплив наркозу на можливість проведення хірургічних процедур з прикладами молекулярних взаємодій, які впливають на поведінку популяції людей та громад.

² У 1988 р. група вчених із Японії (Yanagisawa et al., 1988) висвітлила в окремій статті, що заслуговує на увагу, процес біоаналізу, очищення, хімічного аналізу, синтезу та клонування ДНК нового судинного пептиду – ендотеліну (розд. 23).

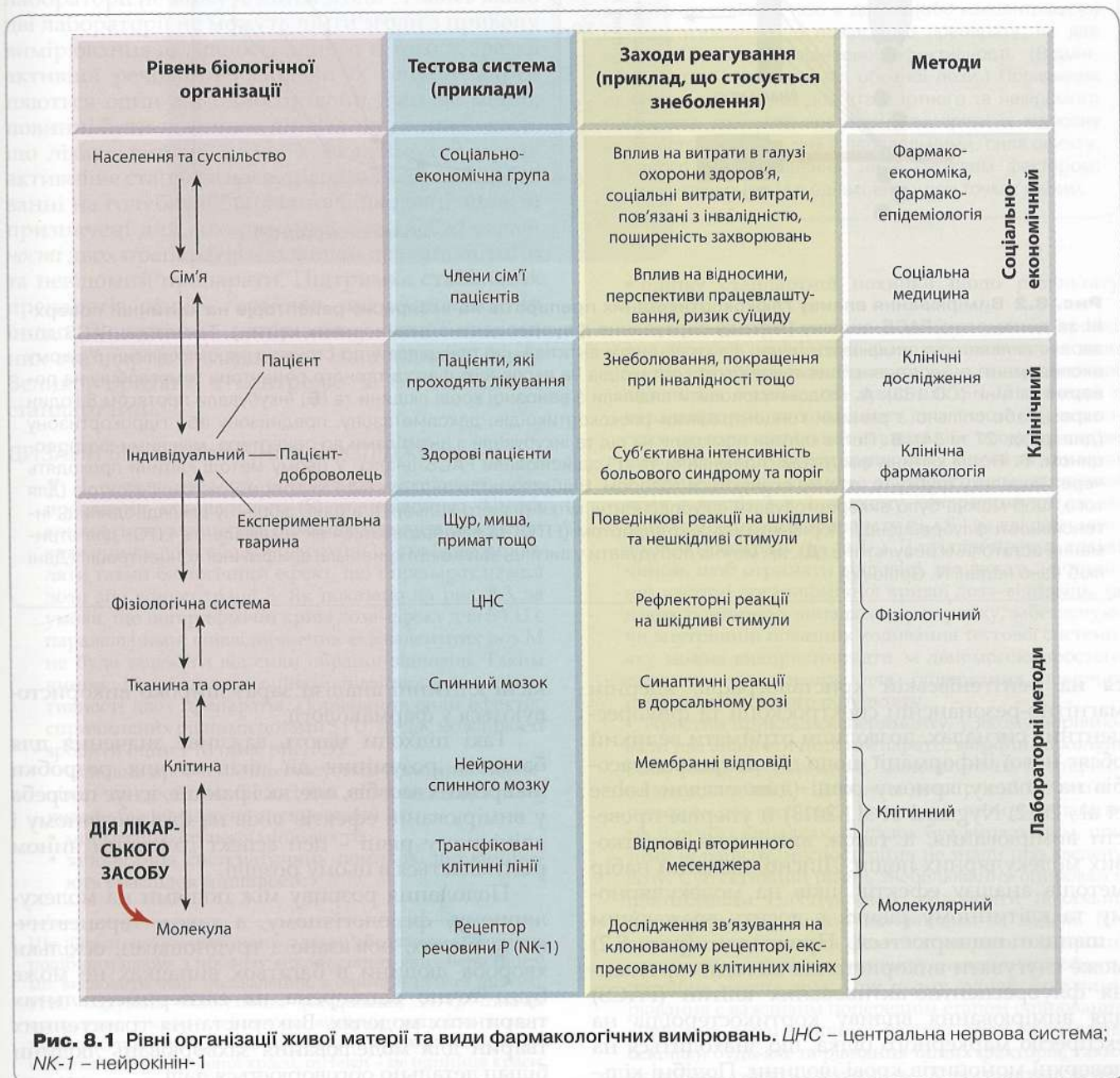
Вибір лабораторних тест-систем (моделі *in vitro* та *in vivo*), які забезпечують такий прогностичний зв'язок, є важливим аспектом кількісної фармакології.

У 1960-х роках фармакологи навчилися використовувати окремо взяті органи й лабораторних тварин (зазвичай під анестезією) для проведення кількісних експериментів та розробили принципи біоаналізу, що дозволяють проводити надійні вимірювання з використанням цих іноді складних і непередбачуваних тест-систем.

Біоаналіз з використанням різних тест-систем можна проводити паралельно, щоб виявляти профіль активності невідомого медіатора. Вейн (Vane) та його колеги вивчали процес утворення і руйнування в крові ендогенних активних речовин, таких як простагландини (див. розд. 18), з використанням методу *каскадної перфузії*, вимі-

рюючи скорочення або розслаблення низки різних випробовуваних препаратів непосмугованих м'язів, обраних для диференціації різних активних речовин у зразку. Цей метод мав неоціненне значення для вивчення процесу утворення та напрямків перетворення/метаболізму короткоживучих медіаторів, таких як тромбоксан, простаглілін та оксид азоту (розд. 18 та 21).

Ці «традиційні» системи аналізу визначають дію ліків на фізіологічному рівні – умовно кажучи, на проміжному рівні організаційної ієрархії, відображеної на рис. 8.1. З тих пір відбувалось розширення діапазону в обох напрямках – молекулярному та клінічному. На сьогодні широко використовуються аналізи зв'язування (розд. 3) і клітинні лінії, отримані за допомогою інженерії, які експресують нормальні й мутантні рецептори та сигнальні молекули. Методи, що базують-



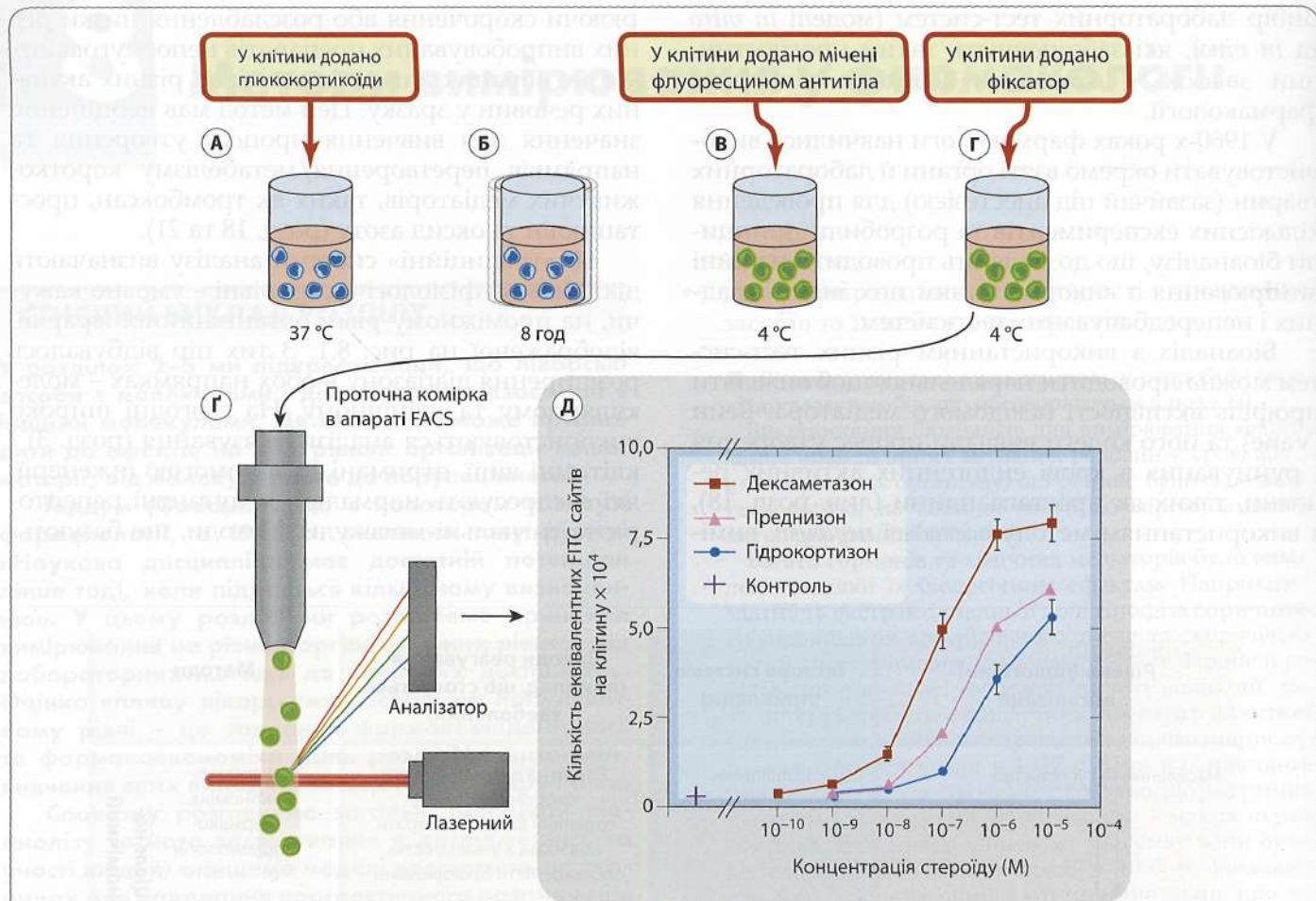


Рис. 8.2 Вимірювання впливу глюкокортикоїдних препаратів на експресію рецепторів на клітинній поверхні за допомогою FACS-аналізу (методу сортування флуоресцентно-активованих клітин). Технологія FACS дозволяє виявляти та вимірювати мічені флуоресцином антитіла, що прикріплені до структур окремих клітин. У цьому експерименті оцінюється вплив трьох глюкокортикоїдів на експресію фагоцитарного рецептора гемоглобіну на поверхні клітини (CD 163). **А.** Людські моноцити виділялися з венозної крові людини та **(Б)** інкубували протягом 8 годин окремо або спільно з різними концентраціями глюкокортикоїдів, дексаметазону, преднізону або гідрокортизону (див. розд. 27 та 34). **В.** Потім клітини поміщали на лід та інкубували з антитілами до рецептора, міченими флуоресцином. **Г.** Потім клітини фіксували, промивали та **(Г)** здійснювали FACS-аналіз. У цьому методі клітини проходять через невелику трубку та окремо скануються лазером. Відбите світло аналізується за допомогою серії фільтрів (для того, щоб можна було використовувати флуоресцентні мітки різного кольору), а дані, зібрані у вигляді одиниць інтенсивності флуоресценції, порівнюються зі стандартом (FITC) та відображаються як «еквіваленти FITC» для отримання остаточних результатів **(Д)**, які можна побудувати у вигляді звичайної кривої логарифмічної концентрації. (Дані люб'язно надані N. Goulding)

ся на рентгенівській кристалографії, ядерній магнітно-резонансній спектроскопії та флуоресцентних сигналах, дозволили отримати великий обсяг нової інформації щодо дії лікарських засобів на молекулярному рівні (див. огляди Lohse et al., 2012; Nygaard et al., 2013) й уперше провести вимірювання, а також виявлення початкових молекулярних подій. Дійсно, наявний набір методів аналізу ефектів ліків на молекулярному та клітинному рівнях є досить вражаючим і швидко поширюється. Прикладом (рис. 8.2) може слугувати використання методу сортування флуоресцентно-активованих клітин (FACS) для вимірювання впливу кортикостероїдів на експресію маркерного білка, що знаходиться на поверхні моноцитів крові людини. Подібні кіль-

кісні клітинні аналізи зараз широко використовуються у фармакології.

Такі підходи мають важливе значення для базового розуміння дії ліків та для розробки лікарських засобів, але, як і раніше, існує потреба у вимірюванні ефектів ліків на фізіологічному і клінічному рівні – цей аспект головним чином розглядається в цьому розділі.

Подолання розриву між подіями на молекулярному, фізіологічному, а також терапевтичному рівнях, пов'язане з труднощами, оскільки хвороба людини в багатьох випадках не може бути точно відтворена на експериментальних тваринних моделях. Використання трансгенних тварин для моделювання захворювань людини більш детально обговорюється далі.

ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ ПРОВЕДЕННЯ БІОАНАЛІТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

ВИКОРИСТАННЯ СТАНДАРТІВ

Дж.Г. Берн (J.H. Burn) у 1950 р. зробив такий запис: «Сьогодні фармакологи, при тому, що вони надмірно педантично ставляться до витягнутої вбік руки короля, але проковтують жабу, щура та мишу, не кажучи вже про морську свинку та голуба». Він мав на увазі той факт, що від «витягнутої вбік руки короля» давно відмовилися як від стандартної міри довжини, в той час як активність лікарських засобів, як і раніше, визначалася з позиції дози, необхідної для того, щоб спричинити, скажімо, блювання у голуба або зупинку серця у миші. Література просто засмічена великою кількістю «голубиних одиниць активності», «мишачих одиниць активності» тощо, по відношенню до яких дві різні лабораторії не можуть дійти згоди³. Навіть якщо дві лабораторії не можуть дійти згоди з приводу вимірювання активності одного й того ж зразка активної речовини (оскільки їх голуби відрізняються один від одного), вони, тим не менш, повинні бути здатними дійти згоди в плані того, що лікарський препарат X, скажімо, в 3,5 разу активніше стандартного препарату Y у випробуванні на голубах. Відповідно, біологічні аналізи призначені для вимірювання *відносної ефективності* двох препаратів – зазвичай це стандартний та невідомий препарати. Підтримка стабільних препаратів різних гормонів, антисироваток та інших біологічних матеріалів у якості еталонних стандартів є завданням Національної ради Великої Британії з контролю за біологічними стандартами.

ДИЗАЙН БІОАНАЛІТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

▼ З огляду на мету порівняння активності двох препаратів, стандартного (S) та невідомого (U), на конкретному препараті, біоаналіз повинен забезпечувати оцінку дози або концентрації U, яка буде виробляти такий біологічний ефект, що і препарат певної дози або концентрації S. Як показано на рис. 8.3, за умови, що логарифмічні криві доза–ефект для S і U є паралельними, співвідношення еквівалентних доз M не буде залежати від сили обраної відповіді. Таким чином, M забезпечує оцінку співвідношення ефективності двох препаратів. Порівняння сили ефектів, спричинених рівними дозами S і U, не дає можливості зробити оцінку M (див. рис. 8.3).

Основна проблема, що стосується всіх типів біоаналізу, – це проблема біологічної мінливості, при тому дизайн біодосліджень спрямований на:

- мінімізацію ступеня мінливості;
- запобігання систематичних помилок, що виникають унаслідок мінливості;

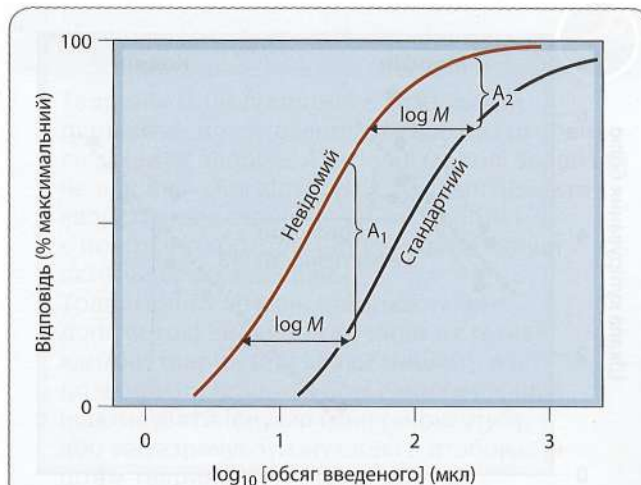


Рис. 8.3 Порівняння активності невідомого та стандартного препарату за допомогою біоаналізу. Зверніть увагу на те, що порівняння сили відповідей, викликаних однією і тією ж дозою (або концентрацією) стандартизованого та невідомого препарату, не дає кількісної оцінки їх відносної ефективності. (Відмінності A_1 та A_2 залежать від обраної дози.) Порівняння однаково ефективних доз стандартного та невідомого препаратів дозволяє достовірно виміряти їх відносну активність. Оскільки лінії є паралельними, сила ефекту, обраного для порівняння, не є суттєвим фактором; тобто показник $\log M$ є однаковим у всіх точках кривих

- оцінку стандартної похибки щодо результату аналізу.

Зазвичай порівняння засновані на аналізі *кривих доза–відповідь*, на підставі яких розраховуються дози S і U, що збігаються. Використання логарифмічної шкали доз означає, що криві для S і U зазвичай є паралельними, та коефіцієнт активності (M) оцінюється по горизонтальній відстані між двома кривими (див. рис. 8.3). Аналізи цього типу відомі як «аналізи з паралельними лініями», найпростішим дизайном яких є аналіз $2 + 2$, в якому використовуються дві дози стандартного препарату (S_1 і S_2) та дві дози невідомого препарату (U_1 та U_2). Дози підбирають таким чином, щоб отримати відповіді, що лежать на лінійній частині логарифмічної кривої доза–відповідь, та дають повторно у випадковому порядку, забезпечуючи внутрішній показник коливання тестової системи, яку можна використовувати за допомогою простого статистичного аналізу для оцінювання довірчих інтервалів кінцевого результату.

Простий приклад експерименту, у якому порівнювали два аналітичних препарати, **морфін** та **кодеїн** (див. розд. 43) у людини, заснований на модифікованому дизайні $2 + 2$, наведено на рис. 8.4. Кожна з чотирьох доз вводилася кожному з чотирьох пацієнтів у різних випадках, порядок був випадковим, при тому ні пацієнт, ні спостерігач не знали про введену дозу. Суб'єктивний рівень знеболювання оцінювався підготованим спостерігачем, результати показали, що морфін є в 3 рази активнішим за кодеїн. Це, звичайно, не доводить факт його переваги, а просто демонструє, що для досягнення аналогічного ефекту потрібна менша доза. При цьому, однак, таке вимірювання є важливим попереднім етапом оцінювання відносних терапевтичних переваг двох препаратів, оскільки будь-яке порівняння інших факторів, таких як побічні ефекти, тривалість дії, переносимість або

³ Ще більш яскравими прикладами абсолютних одиниць подібного плану, з приводу використання яких Берн (Burn) міг висловити явне несхвалення, є одиниці РНІ та mHelen. РНІ, згадувана Колкухоном (Colquhoun; 1971), означає «показник чистоти серця» та вимірює здатність діви з чистим серцем у відповідних умовах перетворювати козла в юнака неперевершеної краси. mHelen – це одиниця краси; 1 mHelen є достатньою, щоб спустити на воду один корабель.

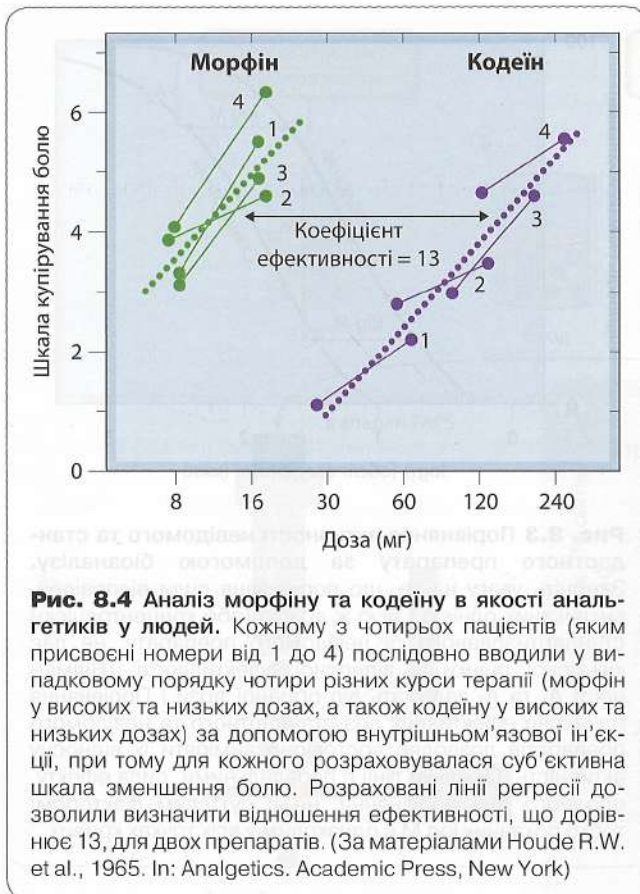


Рис. 8.4 Аналіз морфіну та кодеїну в якості анальгетиків у людей. Кожному з чотирьох пацієнтів (яким присвоєні номери від 1 до 4) послідовно вводили у випадковому порядку чотири різних курси терапії (морфін у високих та низьких дозах, а також кодеїну у високих та низьких дозах) за допомогою внутрішньом'язової ін'єкції, при тому для кожного розраховувалася суб'єктивна шкала зменшення болю. Розраховані лінії регресії дозволили визначити відношення ефективності, що дорівнює 13, для двох препаратів. (За матеріалами Houde R.W. et al., 1965. In: *Analgetics*. Academic Press, New York)

Біоаналітичні дослідження (біоаналіз)

- Біоаналіз – це вимірювання активності лікарського засобу або невідомого медіатора за силою виробленого ним біологічного ефекту.
- Біоаналіз зазвичай включає порівняння невідомого препарату зі стандартним. Оцінки, які базуються на порівнянні зі стандартними зразками, можуть бути різними, залежно від конкретної лабораторії.
- Порівняння доцільно проводити на основі кривих доза–відповідь, які дозволяють використовувати оцінки еквівалентних концентрацій невідомих і стандартних речовин як основи для порівняння ефективності. Аналіз з використанням паралельних ліній відповідає цьому принципу.
- Біологічна відповідь може бути якісною («все або нічого») або кількісно оцінюваною. У кожному випадку використовуються різні відповідні процедури.
- Залежно від рівня біологічної організації, на якому необхідно оцінювати дію лікарського засобу, застосовуються різні підходи до вимірювання. Підходи можуть бути різними, від молекулярних та хімічних методів, досліджень на тваринах *in vitro* та *in vivo*, а також клінічних досліджень на здорових добровольцях та пацієнтах до вимірювання ефектів на соціально-економічному рівні.

залежність, має проводитися на основі доз, що діють однаково ефективно. Проблеми виникають у тому випадку, якщо дві логарифмічні криві доза–відповідь не є паралельними, або якщо максимальні відповіді розрізняються, що може відбуватися, якщо механізм дії обох препаратів різниться, або якщо один з них є частковим агоністом (див. розд. 2). У цьому випадку неможливо однозначно визначити відносну ефективність S і U в плані простого співвідношення, і експериментатор зобов'язаний визнати той факт, що для порівняння потрібно визначати більш ніж один напрямок активності.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ ЗАХВОРЮВАНЬ НА ТВАРИНАХ

Є безліч прикладів, коли прості та інтуїтивно зрозумілі експериментальні моделі на тваринах з достатньою точністю дають змогу передбачити терапевтичну ефективність у людини. У тхорів блкування виникає, коли їх поміщають в хитні клітки, а препарати, які запобігають цим проявам, також допомагають полегшувати симптоми морської хвороби та інші види нудоти у людини. Подразнювальні хімічні речовини, що вводяться в лапи щурів, спричиняють їх набрякання та хворобливі відчуття, при тому така модель допомагає досить добре прогнозувати ефективність ліків, що використовують для полегшення симптомів при запальних станах, таких як ревматоїдний артрит у людини. Як уже обговорювалося в інших розділах цієї книги, моделі для багатьох значущих порушень, таких як епілепсія, цукровий діабет, артеріальна гіпертензія та виразка шлунка, засновані на знанні фізіології відповідного стану, є доступними та успішно використовуються для виготовлення нових лікарських засобів, незважаючи на те, що точність передбачення їх терапевтичної ефективності залишає бажати кращого⁴.

В ідеалі, необхідно, щоб тваринна модель мала схожість із захворюванням людини в таких аспектах:

1. мала подібний патофізіологічний фенотип (*зовнішня достовірність*);
2. мала аналогічний причинно-наслідковий зв'язок (*конструктивна достовірність*);
3. давала аналогічну відповідь на лікування (*прогностична достовірність*).

На практиці існує безліч труднощів, при тому недоліки експериментальних моделей на

⁴ Існує безліч прикладів, у яких ліки демонстрували високу ефективність в експериментальних моделях на тваринах (наприклад, для зменшення наслідків пошкодження мозку після церебральної ішемії), але виявлялися неефективними у лікуванні людей (постраждалих від інсульту). Аналогічним чином, антагоністи речовини P (розд. 19) продемонстрували ефективність в експериментах щодо обезболювання на тваринах, але виявилися неактивними при дослідженні серед людей. Ми ніколи не дізнаємося, скільки могло бути зроблено помилок при русі в зворотному напрямку, тому що такі ліки ніколи не досліджували серед людей.

тваринах є однією з основних перешкод на шляху від фундаментальної медицини до вдосконалення методів терапії. Труднощі полягають в такому:

- Багато захворювань, особливо в психіатрії, визначаються такими проявами у людей, які важко або неможливо спостерігати у тварин, що виключає зовнішню достовірність. Наскільки нам відомо, манія або марення не мають аналогів у щурів, у них також немає проявів, схожих на напади мігрені або аутизм. Патолофізіологічна схожість також не застосовується стосовно таких станів, як депресія або тривожні розлади, за яких не виявлена явна патологія головного мозку.
- «Причина» багатьох хвороб людини є складною або взагалі невідомою. Для того, щоб досягти конструктивної достовірності у випадку з багатьма дегенеративними захворюваннями (наприклад, при хворобі Альцгеймера, остеоартриті, хвороби Паркінсона), нам необхідно моделювати висхідні (причинні) фактори, а не низхідні (симптоматичні) особливості захворювання, хоча останні є основними для більшості простих фізіологічних моделей, що використовуються до цих пір. Модель запального болю, згадана раніше, не має конструктивної достовірності для ревматоїдного артриту, який є аутоімунним захворюванням.
- Якщо розглядати відповідь на лікування як тест на прогностичну достовірність, існує ризик випустити з уваги ліки, які діють на основі нових механізмів, тому що модель буде обрана на основі її чутливості щодо відомих ліків. Наприклад, при шизофренії (розділ 47) очевидним є те, що антагоністи дофаміну є ефективними, та багато використовуваних моделей призначені для оцінювання антагонізму дофаміну в мозку, а не для інших потенційних механізмів, на які необхідно впливати, якщо відкриття ліків має на меті вирішення нових завдань.

ГЕНЕТИЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ НА ТРАНСГЕННИХ ТВАРИНАХ

На сьогодні генетичні підходи все частіше використовуються як доповнення до традиційних фізіологічних та фармакологічних підходів щодо моделювання захворювань.

Використовуючи селекційне розведення, можна отримувати чисті лінії тварин з характеристиками, досить схожими з певними захворюваннями людини. Генетичні моделі цього типу включають щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією, мишей з генетичним ожирінням, схильних до епілепсії собак та мишей, щурів з дефіцитом секреції вазопресину і багато інших прикладів. У багатьох випадках відповідальні за певний стан гени залишаються не ідентифікованими.

Тваринні моделі



- Тваринні моделі хвороб є важливими для вивчення патогенезу та відкриття нових лікарських засобів. Тваринні моделі зазвичай не в повній мірі відтворюють певні аспекти хворобливих станів людини. Проблема є особливо гострою щодо моделювання психічних захворювань.
- Трансгенних тварин створюють за допомогою введення мутацій в статеві клітини тварин (зазвичай мишей), які дозволяють вводити нові гени («нокіни»), інактивувати існуючі гени («нокауті») або забезпечувати мутацію в стабільний штаб тварин.
- Трансгенні тварини широко використовуються при розробці моделей захворювань для тестування лікарських засобів. На сьогодні доступні безліч подібних моделей.
- Індукована мутація діє протягом усього періоду розвитку та життя тварини та може призводити до летального результату. Методи умовного мутагенезу дозволяють вмикати або вимикати аномальний ген у певний час.

▼ Миша з ожирінням, яка з'явилася на світ у результаті спонтанної мутації в господарстві з розведення мишей, є однією з найбільш широко використовуваних моделей для вивчення ожиріння та цукрового діабету 2-го типу (див. розділ 32). Фенотип є результатом інактивації гена *лептину* і демонструє досить гарну зовнішню достовірність (рясне споживання їжі, ожиріння тяжкого ступеня, порушення регуляції рівня глюкози в крові, судинні ускладнення – всі особливості, характерні для ожиріння у людини) та досить гарну прогностичну достовірність (реагування на фармакологічне втручання за аналогією з реакціями людей), але при цьому слабо проявляється конструктивна достовірність, оскільки більшість людей з ожирінням не мають дефіциту лептину.

Маніпуляції з генами зародкової лінії для створення *трансгенних тварин* (див. Rudolph & Moehler, 1999; Offermanns & Hein, 2004) є важливим методом створення тваринних моделей, що відтворюють патологічні зміни, які відповідають захворюванням у людини, та, як очікується, будуть сприяти передбаченню терапевтичних ефектів лікарських засобів у людей. Ця універсальна технологія, про яку вперше було повідомлено в 1980 р., може використовуватися по-різному, наприклад:

- для «виключення» окремих генів або їх патологічної зміни (мутації);
- для «включення» нових (наприклад, людських) генів;
- для надекспресії генів за допомогою вставлення додаткових копій;

- для контролю експериментатором експресії генів⁵.

На сьогодні більшість трансгенних технологій застосовуються до мишей, але використати їх щодо інших ссавців є завданням набагато складнішим. Інші хребетні (наприклад риба даніо-реріо) та безхребетні (*Drosophila*, *Caenorhabditis elegans*) усе частіше використовуються в цілях скринінгу лікарських засобів.

Приклади таких моделей включають трансгенних мишей, які надекспресують мутовані форми білка-попередника амілоїду або пресенілін, що мають важливе значення в патогенезі хвороби Альцгеймера (див. розд. 41). Коли цим мишам виповнюється кілька місяців, у них розвиваються патологічні ураження та когнітивні зміни, що нагадують хворобу Альцгеймера, та вони являють собою дуже корисні моделі для тестування можливих нових терапевтичних підходів. Інший нейродегенеративний стан – хвороба Паркінсона (розд. 41) – був змодельований на трансгенних мишах, які надекспресують синуклеїн, білок, що виявляється у включеннях мозку, характерних для цього захворювання. Трансгенні миші з мутаціями в генах-супресорах пухлин та в онкогенах (див. розд. 6) широко використовуються як моделі різних онкологічних захворювань людини. Миші, у яких був інактивованим ген для певного підтипу аденозинового рецептора, демонструють чіткі поведінкові та серцево-судинні аномалії, такі як підвищена агресія, знижена реакція на шкідливі подразники та підвищений артеріальний тиск. Ці дані слугують для точного визначення фізіологічної ролі цього рецептора, функція якого до цих пір була невідомою, та для того, щоб запропонувати нові шляхи, якими агоністи або антагоністи до цих рецепторів можуть бути створені з терапевтичною метою (наприклад, для зниження прояви агресивної поведінки або лікування артеріальної гіпертензії). При цьому, дослідження на трансгенних мишах можуть вводити в оману щодо перебігу хвороб людини. Наприклад, дефект гена, відповідальний за муковісцидоз (захворювання, що уражує в основному легені у людей), при відтворенні на мишах спричиняє розлад, який зазвичай впливає на кишківник.

⁵ При використанні традиційної трансгенної технології генетична аномалія проявляється протягом усього періоду розвитку, іноді приводячи до летального результату або зумовлюючи серйозні аномалії в розвитку. Умовний трансгенез (див. огляд Risteovski, 2005) сприяє тому, що модифікований ген залишається неекспресованим до тих пір, поки він не буде ініційованим з прийманням хімічного промотора (наприклад, аналога тетрацикліну, доксицикліну, в умовній системі Cre-Lox, яка досить широко використовується). Це дозволяє уникати ускладнень, пов'язаних із впливом на розвиток та тривалою адаптацією, та може сприяти більш точному моделюванню захворювання у дорослих людей.

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗА УЧАСТІ ЛЮДЕЙ

Дослідження за участю людей варіюють у широкому спектрі, від експериментальних фармакодинамічних або фармакокінетичних досліджень до офіційних клінічних випробувань. Неінвазивні методи реєстрації, такі як функціональна магнітно-резонансна томографія (fMRI) для вимірювання регіонального кровотоку в головному мозку (імітатора нейронної активності) та ультразвукове дослідження для вимірювання серцевої діяльності, значно розширили діапазон можливостей. Наукові принципи, що лежать в основі експериментальної роботи за участю людей, які розроблені, наприклад, для з'ясування того, чи можуть бути застосовані механізми, що діють щодо інших видів, до людей, або для використання набагато ширших можливостей реагування людини в порівнянні з щуром, та з'ясування того, чи є вони такими ж для людей, як для тварин, але при цьому етичні аспекти та питання безпеки мають першорядне значення.

Комітети з питань етики в усіх медичних дослідницьких центрах жорстко контролюють тип експерименту, який може бути проведений, оцінюючи не тільки питання безпеки та етики, а й наукову важливість пропонованого дослідження. На іншому полюсі спектра експериментів, що проводяться за участю людей, знаходяться офіційні клінічні випробування, часто за участю тисяч пацієнтів, спрямовані на те, щоб отримати відповіді на певні питання, що стосуються ефективності та безпеки нових лікарських засобів.

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічні дослідження – це важлива та високопеціалізована форма біологічного аналізу, що розроблена спеціально для вимірювання терапевтичної ефективності та виявлення побічних ефектів. Необхідність використання пацієнтів, що перебувають на лікуванні, в експериментальних цілях спонукає до врахування серйозних етичних аспектів і накладає багато обмежень. Тут ми обговорюємо деякі з основних принципів, використовуваних у клінічних дослідженнях; роль таких досліджень у процесі розробки лікарських засобів описано в розд. 60.

Клінічне дослідження – це метод об'єктивного порівняння результатів двох або більше терапевтичних процедур за допомогою проведення проспективного дослідження. Для нових лікарських засобів воно проводиться у клінічних дослідженнях II та III фази (розд. 60). Важливо розуміти, що приблизно 60 років тому методи лікування відбиралися на основі клінічних спостережень та особистого досвіду, але не об'єктивних

випробувань⁶. При тому, що багато лікарських засобів з безсумнівною ефективністю продовжують застосовуватися, навіть не піддаючись перевірці в ході контрольованих клінічних досліджень, зараз є необхідним, щоб будь-який новий лікарський препарат проходив випробування саме таким чином, перш ніж він буде ліцензований для клінічного використання⁷.

З іншого боку, **наперстянка** (див. розд. 22) протягом 200 років використовувалася для лікування серцевої недостатності, перш ніж контрольоване дослідження показало, що її цінність є досить обмеженою, за винятком певного типу пацієнтів.

Введення в принципи та організацію клінічних випробувань міститься в роботі А. Гекшоу (Hackshaw; 2009). Клінічне дослідження спрямоване на порівняння відповіді випробувальної групи пацієнтів, що проходять лікування новим препаратом (А), з відповіддю контрольної групи, що перебувають на лікуванні існуючим «стандартним» препаратом (В). Лікування А може проводитися з використанням нового лікарського препарату або нової комбінації існуючих лікарських засобів, або будь-якого іншого виду терапевтичного втручання, такого як хірургічна операція, дієта, фізіотерапія тощо. Стандарт, з яким воно порівнюється (лікування В), може бути медикаментозним або немедикаментозним видом лікування, що використовується в поточній клінічній практиці, або (якщо наразі не існує ефективного лікування) плацебо, або повною відсутністю лікування в принципі.

Використання засобів контролю має вирішальне значення в клінічних дослідженнях. Заяви про терапевтичну ефективність, засновані на повідомленнях про те, що, наприклад, 16 з 20 пацієнтів, які отримували препарат Х, одужали протягом 2 тижнів, не мають ніякої користі (особливо щодо легких захворювань, які проходять самі по собі), за відсутності обізнаності про те, яким саме міг би бути результат щодо

20 пацієнтів, що проходили лікування іншим препаратом або зовсім не проходили лікування. При використанні *клінічного дослідження у паралельних групах* контроль здійснюється окремою групою пацієнтів з тих, що проходять пробний курс лікування, але іноді може бути використано *перехресне дослідження*, при якому ті ж пацієнти переключуються з пробного курсу лікування на контрольний або навпаки, та результати порівнюються. Рандомізація має важливе значення, оскільки дає змогу уникати стандартних помилок при віднесенні окремих пацієнтів до групи дослідження або контролю. Таким чином, *рандомізоване контрольоване клінічне дослідження* наразі розглядається як важливий інструмент для оцінювання клінічної ефективності нових лікарських засобів.

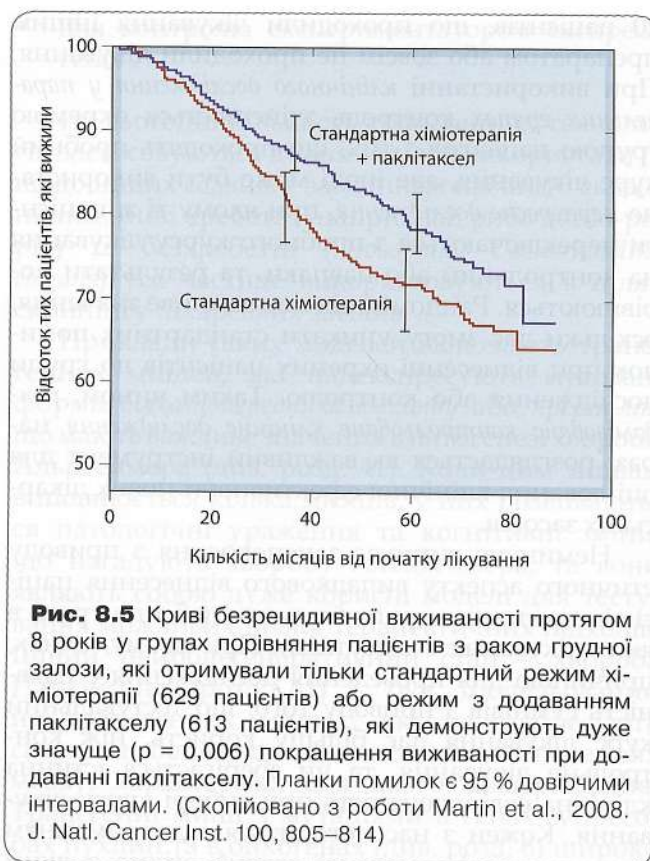
Неминуче виникає занепокоєння з приводу етичного аспекту випадкового віднесення пацієнтів до певних груп лікування (або до груп, в яких лікування є відсутнім). При цьому, однак, причиною для проведення дослідження є наявність сумнівів з приводу того, що тестувальний курс лікування дає більшу користь, ніж контрольне лікування, та чи зберігається істинна клінічна еквівалентність при виборі курсу лікування. Кожен з нас погодиться з дотриманням принципу інформованої згоди⁸, згідно з яким кожен пацієнт повинен бути проінформованим про характер і ризики дослідження та дати згоду брати участь у ньому з тієї причини, що він або вона буде випадковим чином та неусвідомлено віднесеним(ою) до групи дослідження або контролю. «Гельсінкська Декларація», що оновлюється на регулярній основі, встановлює загальноприйняті основні правила, що регулюють проведення досліджень за участю людей.

На відміну від біоаналізу, що обговорювався раніше, клінічне дослідження зазвичай не дає ніякої інформації про активність або форму кривої доза-відповідь, при його проведенні просто порівнюється відповідь, зумовлена двома або більше терапевтичними режимами. Криві виживаності є одними з найбільш часто використовуваних критеріїв. На рис. 8.5 можна порівняти показники безрецидивної виживаності в двох групах пацієнтів з раком грудної залози, що проходили курс хіміотерапії з додаванням паклі-

⁶ Хоча й є винятки. Джеймс Лінд (James Lind) провів контрольоване випробування у 1753 році за участю 12 моряків, яке продемонструвало, що апельсини та лимони захищають від цинги. При цьому, однак, минуло 40 років, перш ніж військово-морські сили Великої Британії почали дотримуватись його рекомендацій, й пройшло ціле століття, перш ніж те саме зробили військово-морські сили США.

⁷ У деяких колах побутує думка про те, що вимога про надання доказів ефективності терапевтичних процедур у формі контрольованих випробувань суперечить доктринам «комплексної» медицини. Ця думка є антинауковою за своєю суттю, оскільки розвиток науки відбувається тільки за допомогою вироблення прогнозів на основі гіпотез та їх подальшої перевірки в ході експериментів. «Альтернативні» медичні процедури, такі як гомеопатія, ароматерапія, голковколвання або «детоксикація», рідко випробувалися подібним чином, а якщо такі випробування проводилися, вони зазвичай були недостатньо ефективними. На захист наукового підходу виступає рух за *доказову медицину* (див. статтю Sackett et al., 1996), який встановлює суворі критерії оцінки терапевтичної ефективності на основі рандомізованих контрольованих клінічних досліджень та закликає скептично ставитися до терапевтичних доктрин, ефективність яких не була доведена під час проведення таких досліджень.

⁸ Навіть цей аспект може стати причиною суперечок, тому що пацієнти з порушенням свідомості, деменцією або психічно хворі люди, не можуть дати таку згоду, однак ніхто не хотів би стати на заваді при проведенні випробувань, у яких цим пацієнтам, які потребують емоційної підтримки, могли б бути запропоновані поліпшені методи лікування. Клінічні випробування за участю дітей є особливо проблемними, але вони необхідні, якщо лікування дитячих хвороб має ґрунтуватися саме на тій доказовій базі, яка вважається належною для дорослих людей. Існує багато прикладів, у яких, як показує досвід, діти реагують інакше, ніж дорослі, та наразі на фармацевтичні компанії все частіше здійснюється тиск з метою проведення випробувань за участю дітей, незважаючи на труднощі, що пов'язані з проведенням подібних досліджень. Такі самі проблеми стосуються випробувань за участю пацієнтів похилого віку.



такселу та без нього (див. розд. 57). Розбіжність кривих показує, що паклітаксел значною мірою покращив клінічну відповідь. Можуть виникати додаткові питання, наприклад про частоту та серйозність побічних ефектів або про те, чи впливає лікування краще або гірше на певні категорії пацієнтів, але тільки в разі виникнення додаткових складнощів та зростання кількості пацієнтів. При використанні підходу, який передбачає протоколювання, дослідник зобов'язаний заздалегідь вирішити, яку дозу необхідно використовувати та як часто її належить вводити, і лише в процесі проведення дослідження стане зрозуміло, чи мав обраний режим більшу чи меншу ефективність порівняно з контрольним лікуванням. Без порівняння різних доз неможливо визначити, покращилася б або погіршилася б відповідь після збільшення або зменшення дози.

Попередня або фундаментальна робота має бути в значному обсязі завершена до розробки та початку клінічного дослідження, яке вимірює результати для пацієнтів при використанні нового лікарського препарату. Таким чином, основне питання або гіпотеза, на які покликане дати відповідь клінічне випробування, є простішим, ніж те питання, на яке мають дати відповідь більшість традиційних біоаналізів. При цьому, однак, організація клінічних випробувань з використанням засобів контролю стандартної помилки є незмірно складнішим процесом, більш витратним щодо часу та матеріальних ресурсів, ніж будь-який лабораторний аналіз.

Таким чином, спостережні дослідження можуть бути більш раціональними чи придатними для оцінювання рідкісних побічних ефектів, якщо потрібно забезпечити великий обсяг вибірки та довгострокове подальше спостереження.

УНИКНЕННЯ СТАНДАРТНОЇ ПОМИЛКИ

Існують три основні стратегії, спрямовані на мінімізацію стандартної помилки в клінічних випробуваннях, а саме:

- 1) рандомізація;
- 2) подвійний сліпий метод;
- 3) скрупульозне подальше спостереження та підтвердження результатів.

Якщо два методи лікування, А і В, порівнюються з використанням груп відібраних пацієнтів, найпростіша форма рандомізації полягає в тому, щоб віднести кожного пацієнта до А або В групи шляхом посилення на серію випадкових чисел, підкидання монети або навіть жеребкування. У належним чином рандомізованому дослідженні пацієнт або дослідник не повинен мати впливу на те, яке лікування в кінцевому підсумку отримає пацієнт. Одна з проблем, особливо коли групи невеликі, полягає в тому, що ці дві групи можуть виявитися несумісними за такими характеристиками, як вік, стать або тяжкість захворювання. *Стратифікована рандомізація* дозволяє уникнути труднощів за рахунок поділу суб'єктів на вік, стать, ступінь тяжкості захворювання або інші категорії, при цьому всередині кожної категорії використовується випадкове віднесення до А або В. Таким чином можна розглядати дві або більше характеристики досліджуваної популяції, але число шарів може швидко збільшитися, та процес є приреченим на провал, коли число суб'єктів у кожному шарі стає надто малим. Поряд із запобіганням помилок, що виникають через незбалансованість груп, віднесених до А і В, стратифікація також дозволяє робити більш складні висновки. Наприклад, В може виявитися краще, ніж А в певній групі пацієнтів, навіть якщо в цілому він не набагато краще.

Подвійний сліпий метод, за якого ні суб'єкт, ні дослідник під час оцінювання не знають, який спосіб лікування використовується, призначений для мінімізації суб'єктивної стандартної помилки. Вже неодноразово було продемонстровано, що сповнені найкращих намірів учасники досліджень і дослідники сприяють виникненню стандартної помилки, якщо вони точно знають про те, який саме спосіб лікування використовується. Поінформованість про певне досліджуване лікування може призводити до змін у клінічному веденні або до необ'єктивної звітності та оцінки результатів. Попри те, що використання методу подвійного сліпого дослідження є важливим заходом обережності, не завжди можна уникнути стандартної помилки. Наприклад, рідко вдається приховати інформацію про режим харчування; що стосується лікарських препаратів,

фармакологічні ефекти можуть підказати пацієнтам, які саме препарати вони приймають, та схилити їх до відповідного звітування⁹. Загалом, однак, подвійний сліпий метод із застосуванням запобіжних заходів, якщо необхідно приховати такі підказки, як смак або зовнішній вигляд двох препаратів, використовується всюди, де це тільки можливо¹⁰. Якщо повне засліплення учасників та дослідників не є можливим, одним з варіантів може стати подальше спостереження для оцінювання наслідків, що проводиться експертами, які не знають про використовуване лікування.

Для високоякісних клінічних випробувань передбачені заздалегідь визначені терміни проведення подальших спостережень, в яких результати оцінюються певним чином. Результати досліджень можуть бути неповними та потенційно необ'єктивними, якщо пацієнти вибувають з дослідження або не беруть участь у подальшому спостереженні з огляду на те, що експеримент не вплинув на їх симптоми в бік покращення. Подальше спостереження, яке проводиться неналежним чином, або відсутність даних свідчить про те, що, можливо, не були прийняті до уваги важливі результати (наприклад серйозні побічні явища).

РОЗМІР ВИБІРКИ

Етичні та фінансові міркування диктують, що в дослідженні має брати участь мінімальна кількість осіб, які випробовуються, але велика частина статистичних викладок була пов'язана з проблемою завчасного прийняття рішення про те, скільки учасників дослідження потрібно для отримання корисного та статистично значущого результату (розрахунок *потужності*). Результати дослідження не можуть бути в абсолютній мірі остаточними, оскільки воно засновано на вибірці пацієнтів (відібраних на основі конкретних критеріїв відповідності для участі в дослідженні), та завжди існує ймовірність того, що вибірка була нетиповою для тієї популяції, в якій вона отримана. Таким чином, результати дослідження не можуть бути узагальнені для встановленої клінічної практики.

Судження про належний обсяг вибірки мають базуватись на тому, чи є метою вибірки демонстрація того, що два способи лікування еквівалентні (наприклад, лікування із застосуванням

нового препарату ні в чому не поступається тому, що використовується на сьогодні), або ж метою вибірки є демонстрація того, що існує істотна різниця між двома способами лікування. Можливі два види неправильних висновків, які називаються *похибками I типу* та *похибками II типу*. Похибка I типу з'являється, коли результати показують різницю між А та В, хоча насправді її немає (хибно-позитивний результат). Похибка II типу з'являється, коли не виявляють різниці між значеннями А та В, які насправді відрізняються (хибно-негативний результат). Головним фактором, який визначає необхідний розмір вибірки, є необхідний досліднику ступінь достовірності уникнення будь-якого типу помилок. Вірогідність настання похибки I типу виражається у *значущості* результату. Коли ми говоримо, що А та В відрізняються на рівні значущості $p < 0,05$, це означає, що вірогідність отримати хибно-позитивний результат (наприклад, включно із похибками I типу) складає менш ніж 1 на 20. Для більшості цілей такий рівень значущості вважається прийнятним для формулювання висновків.

Вірогідність виявлення істотних розбіжностей між втручаннями та уникнення помилки II типу називається *силою* дослідження. У нас є схильність ставитися до помилок II типу більш м'яко, ніж до помилок I типу, і прийнятним є дизайн дослідження із силою 0,8–0,9, що означає 80–90 % вірогідності виявлення реального впливу. Більший розмір вибірки надасть більшу силу дослідженню чи можливість виявлення будь-якої різниці, що існує.

Другим фактором, що впливає на необхідний розмір вибірки, є величина різниці між А та В, яка приймається за клінічно значущою. Наприклад, для того щоб виявити, що певний метод лікування знижує смертність при певному захворюванні щонайменше на 10 відсоткових точок, скажімо, з 50 % (в контрольній групі) до 40 % (в досліджуваній групі), нам знадобиться 850 суб'єктів, виходячи із того, що ми хотіли досягти рівня значущості $p < 0,05$ та сили 0,9. Якщо нам достатньо лише виявити більш виражений лікувальний ефект зниження смертності на 20 відсоткових точок (і, скоріш за все, пропустити факт його зниження на 10 точок), нам буде необхідно лише 210 суб'єктів. У цьому прикладі випущення реального зниження смертності на 10 точок може призвести до випущення з уваги методу лікування, який збереже 100 життів із кожних 1000 лікованих пацієнтів – з погляду суспільства, вкрай серйозна помилка. Наведений простий приклад наголошує на необхідності оцінювання клінічної переваги (що часто є поняттям, яке важко оцінити) паралельно статистичним аспектам (які дуже прямолінійні) при плануванні досліджень.

▼ Дослідження може показати значні результати (переваги чи шкоди) ще до того, як буде набрано заплановану кількість пацієнтів, тож широко застосовується практика виконання проміжного аналізу через певні інтервали (виконується незалежною

⁹ Нелегко виявити різницю між дійсною фармакологічною відповіддю та корисним клінічним впливом, виходячи із розуміння (котре базується на фармакологічному ефекті, яке виявляє препарат), що приймався активний препарат, і нам не варто очікувати, що лише тільки клінічне дослідження допоможе розв'язати цю непросту семантичну проблему.

¹⁰ Утримання засліплення може бути проблематичним. У намаганні прояснити чи є мелатонін ефективним при боротьбі із синдромом зміни часових поясів фармаколог-дослідник набрав групу колег-фармакологів на конгресі в Австралії та надав немарковані капсули мелатоніну чи плацебо, а також по приїзду дав заповнити опитувальник щодо синдрому зміни часових поясів. Деякі з них (включно з одним із представлених авторів), які мали доступ до ресурсів, завдяки яким могли провести аналіз, відкрили капсули та відправили їх у смітник коли виявили, що ті містять плацебо. Фармакологи також люди.

командою моніторингу даних, щоб команда дослідження залишалася в невіданні щодо результатів). Якщо такий аналіз надає кінцевий результат або його результати показують, що отримати кінцевий результат малоймовірно (тобто його недоцільність), дослідження може бути припинено, і тим самим зменшиться кількість обстежених суб'єктів. В одному широкомасштабному дослідженні (Дослідницька група з вивчення впливу бета-блокаторів на серцевий напад, 1982 р.), де вивчалось значення довготривалого приймання β-адреноблокатора, пропранололу, (розд. 15) після серцевого нападу, проміжні результати показали значне зниження показників смертності, що призвело до раннього завершення дослідження. Інше дослідження, Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST, Echt et al., 1991), було припинено, оскільки в терапевтичній групі, всупереч очікуванням, було виявлено зростання показника смертності у порівнянні із плацебо.

Наразі існує тенденція до проведення широкомасштабних досліджень для того, щоб була можливість порівняти декілька різних протоколів лікування та в декількох різних групах пацієнтів. Прикладом є дослідження ALLHAT, у якому вивчали вплив різних антигіпертензивних та ліпідознижувальних засобів, на наслідки серцево-судинних захворювань (див. розд. 23). Воно проводилось з 1994 по 2002 рр., коштувало 130 млн доларів, і в ньому взяли участь більш ніж 42 000 пацієнтів в 623 центрах, і було залучено армію координаторів та менеджерів, щоб усе це працювало як треба. Одним із деяких далекосяжних висновків дослідження стало, що дешевий та добре відомий діуретик, який використовується більш ніж 50 років, був більш ефективним за сучасніші та дорожчі антигіпертензивні засоби¹¹.

ОЦІНЮВАННЯ КЛІНІЧНИХ НАСЛІДКІВ

Вимірювання клінічних наслідків може бути складним завданням, і стає лише складнішим, оскільки суспільство все більш переймається оцінкою ефективності терапевтичних процедур з позиції збільшення тривалості життя та поліпшення його якості, а також з огляду на соціальні та економічні переваги. Було розроблено та перевірено велику кількість шкал для оцінювання «якості життя, пов'язаної зі здоров'ям» (див. Walley & Naucocks, 1997), їх можна використовувати у поєднанні із оцінкою «років збереженого повноцінного життя» («quality-adjusted life years» [QALYs]) в якості загального мірила терапевтичної ефективності, де відображено намагання поєднати показники тривалості виживання та полегшення страждання для оцінювання загальної користі методу¹². При

¹¹ Хоча наразі це не має суттєвого впливу на звички із призначення засобів завдяки маркетинговій активності фармацевтичних компаній.

¹² Можна уявити, що з огляду на ту популярність, з якою порушуються питання тривалості та якості життя, багато хто із нас є певною мірою перебірливим. Однак це не стосується економістів. Вони підходять до цієї проблеми, задаючи питання на кшталт «скільки роками ви готові пожертвувати, щоб решту життя жити без обмеження, яке наразі вас турбує?». Чи, що більш насторожує: «Якщо, з урахуванням поточного стану, у вас буде вибір жити без обмеження протягом своєї природної тривалості життя, чи (у випадку неправильного вибору) ви негайно помрете - що ви виберете?». Уявіть, що це вас питає ваш лікар. «Але я просто хотів щось для мого хворого горла», - невпевнено запротестуєте ви.

плануванні клінічних досліджень доцільно завчасно вирішити мету дослідження та, відповідно, визначити критерії ефективності, зокрема з огляду на сучасну увагу до результатів, що є важливим для пацієнтів.

Оцінювання довготривалої переваги для пацієнтів може тривати роками, тож часто в якості показників ефективності дослідження використовуються об'єктивний клінічний вплив, як-от зниження артеріального тиску, покращення провідності дихальних шляхів чи зміна кількості лейкоцитів. Ці сурогатні маркери вказують на патофізіологічні зміни, про які пацієнт, скоріш за все, не знає. У багатьох випадках, хоча й не завжди, такі зміни добре корелюють із клінічними наслідками, оскільки вони впливають на пацієнта. У дослідженні CAST (див. раніше) було виявлено, що протиаритмічні засоби пригнічують певні шлуночкові аритмії (сурогатний маркер), але також підвищують частоту раптової серцевої смерті. Таким чином, державні регуляторні органи з обгрунтованою обережністю ставляться до сурогатних кінцевих точок при оцінюванні дійсної користі для пацієнта.

ПЛАЦЕБО

▼ Плацебо - це препарат-пустушка, котрий не містить діючої речовини (чи, наприклад, пустушка-операція, дієта чи будь-який інший тип терапевтичного втручання), який пацієнт вважає справжнім (чи може бути дієвим, якщо дивитися в контексті контрольованого дослідження). Поширена думка, що «відповідь на плацебо» (див. огляд Enck et al., 2013) має сильний терапевтичний вплив¹³, що призводить до значного покращення у близько третини пацієнтів. В той час як у багатьох клінічних дослідженнях включена група плацебо, в якій спостерігаються покращення, мало хто порівнював цю групу безпосередньо із контрольною, де лікування не проводилось, зокрема у випадках, коли природна динаміка захворювання полягає у зникненні симптомів без будь-яких втручань. Роль плацебо є темою важливих дебатів, і дехто стоїть на тому, що плацебо має обмежений вплив, окрім, можливо, у дослідженнях, в яких фігурує біль чи нудота (Hrobjartsson & Gotzsche, 2010), в той час як інші повідомляють про клінічно значущі зміни на фоні застосування плацебо (Howick et al., 2013). Також проводиться все більша кількість прагматичних досліджень, де новий метод лікування порівнюється зі «стандартним або звичайним» замість штучних конструктів із використанням пустушки-таблетки плацебо, які не відображають те, що насправді отримає пацієнт при використанні засобу в клінічній практиці.

Ризик лікування плацебо не варто недооцінювати. Так, початок використання справжніх засобів може бути відтерміновано. Певний необхідний елемент обману¹⁴ пов'язаний з ризиком підірвати довіру пацієнтів до добросовісності лікарів. У людей, які не хворі,

¹³ І навпаки, при ефекті ноцебо повідомляється про появу негативних проявів при прийманні засобу-пустушки.

¹⁴ На диво, може навіть не виникати необхідність у обмані. Kaptchuk et al. (2010) виявили, що стан пацієнтів із синдромом подразненої кишки дещо більше покращувався в групі, яка приймала інертні пігулки плацебо, про які лікар так і повідомив, аніж у пацієнтів, які не приймали лікування зовсім. Однак ефект був незначним, і пацієнтів застосовували додумати, що таблетки можуть залучити «процес зцілення, який пов'язує мислення та тіло».

може бути сформовано «залежність від лікування», оскільки неможливо оцінити чи досі пацієнт «потребує» плацебо.

МЕТААНАЛІЗ

▼ При використанні статистичних технік, можливо скомбінувати дані, отримані в ході декількох окремих досліджень (якщо кожне було проведено за дизайном рандомізації) для того, щоб отримати більшу силу та значущість. Ця процедура, відома як *метааналіз* чи *аналіз оглядів*, може бути дуже корисною в досягненні висновку на основі декількох опублікованих досліджень, де хтось вказував на переваги досліджуваного методу лікування над контрольним, у той час як інші це заперечували. Як об'єктивна процедура із визначеною формою добору досліджень та критеріями оцінки якості, звісно, перевага у формуванні висновків віддається підходу «вибери сам» – він використовується більшістю людей, які стикаються із суперечливими даними. Однак цей підхід має декілька вад (див. Naylor, 1997), головною з яких є схильність до вибіркового повідомлення результатів та «публікаційне зміщення», оскільки у досліджень із негативними (або небажаними) результатами менше шансів на публікацію, аніж у досліджень із позитивними результатами, частково тому, що вони вважаються менш цікавими, чи, якщо серйозно, тому, що ця публікація зашкодить справам фармацевтичної компанії, яка проводила дослідження¹⁵. Іншою проблемою є повторний підрахунок, зумовлений тим, що ті самі дані трапляються більш ніж в одному звіті про дослідження.

У літературі представлено багато клінічних досліджень із погано спланованим дизайном чи просто ненадійних. Кокранівське співробітництво (www.cochrane.org) ретельно фільтрує літературу та робить *систематичні огляди*, де зіставляються та поєднуються дані лише тих досліджень (лікарських засобів та інших лікувальних втручань), які відповідають жорстким критеріям якості. Доступно близько 7000 таких резюме «золотого стандарту», де представлена найбільш достовірна оцінка даних досліджень щодо широкого кола засобів.

БАЛАНС МІЖ КОРИСТЮ ТА РИЗИКОМ

ТЕРАПЕВТИЧНИЙ ІНДЕКС

Концепція терапевтичного індексу спрямована на те, щоб забезпечити оцінку межі безпеки засобу через ретельну увагу до зв'язку між ефективною та токсичною дозами:

$$\text{Терапевтичний індекс} = LD_{50} / ED_{50}$$

де LD_{50} – летальна доза для 50 % популяції, а ED_{50} – «ефективна» доза для 50 % популяції. Вочевидь, його можна виміряти лише у тварин, і він не є корисним показником у тому, що стосується безпеки застосування засобу в клінічних умовах із певних причин:

- LD_{50} не відображає частоту виникнення побічних реакцій під час терапії¹⁶.

¹⁵ Для зменшення впливу упередження наразі існують заходи, за яких більшість клінічних досліджень мають реєструватися, а їх результати мають публічно розголошуватись.

¹⁶ Іронія полягає в тому, що талідомід – певно, найбільш шкідливий препарат, який коли-небудь потрапив на ринок – просувався, зокрема, через його винятково високий терапевтичний індекс (тобто він убиває щурів лише в надзвичайно високих дозах).

Клінічні дослідження



- Клінічне дослідження – це особливий тип біологічного експерименту, який виконується для порівняння клінічної ефективності нового лікарського засобу чи процедури із відомим лікарським засобом або процедурою (чи плацебо).
- У найпростішому вигляді, його метою є безпосереднє порівняння невідомого (А) лікарського засобу зі стандартним (В) на рівні одноразового введення, де результат може бути «В краще за А», «В гірше за А», чи «Різниця не виявлено». Порівнюється ефективність, а не активність.
- Для попередження формування упередження клінічні дослідження мають бути:
 - *контрольованими* (порівняння А та В, а не дослідження лише А);
 - *рандомізованими* (випадкове призначення учасників дослідження в групи А та В);
 - *подвійними сліпими* (ні учасник, ні дослідник не знають, що використовується – А чи В).
- Можуть траплятися похибки I типу (коли робиться висновок, що А краще за В, хоча насправді різниця випадкова) та II типу (коли робиться висновок, що А не відрізняється від В, оскільки реальна різниця вийшла із поля зору). Вірогідність настання похибок будь-якого типу знижується із підвищенням якості методології, збільшенням розміру вибірки та кількості кінцевих точок.
- Проміжний аналіз даних, що проводиться незалежною групою, можна використовувати як підґрунтя для передчасного завершення дослідження, коли дані вже достатньо переконливі, або у випадку, коли досягнення зрозумілого результату є малоімовірним.
- Усі експерименти за участю людей вимагають ухвалення незалежного етичного комітету.
- Клінічні дослідження потребують дуже ретельного планування та виконання і є неминуче дорогими.
- До показників клінічних наслідків належать:
 - фізіологічні показники (наприклад, артеріальний тиск, печінкові проби, обстеження функції дихальних шляхів);
 - суб'єктивні методи оцінювання (наприклад, зменшення болю, покращення настрою);
 - довготривалі наслідки (наприклад, показник виживаності чи відсутність рецидивів);
 - загальні методи оцінювання «якості життя»;
 - оцінювання показника «роки збереженого повноцінного життя» (QALYs), де скомбіновано показник виживаності із якістю життя.
- Метааналіз – це статистична технологія, яка використовується для поєднання даних із декількох незалежних досліджень.

- ED_{50} залежить від того, який застосовується критерій ефективності. Наприклад, ED_{50} **аспірину**, який використовується для лікування помірного головного болю є значно нижчим за той, коли аспірин використовується як протиревматичний засіб.

- Як ефективність, так і токсичність є дуже індивідуальними. Індивідуальні відмінності в розмірі ефективної чи токсичної дози засобу робить його неминуче менш передбачуваним і, відповідно, безпечним показником, проте на терапевтичному індексі це не відображається.

ІНШІ МЕТОДИ ОЦІНЮВАННЯ КОРИСТІ ТА РИЗИКУ

▼ Дуже багато уваги привернули альтернативні способи оцінювання користі та ризику засобів при клінічному застосуванні. Один із корисних підходів полягає в оцінюванні на підставі даних клінічних досліджень співвідношення пацієнтів групи дослідження та контролю, які досягнуть (А) визначеного рівня клінічної переваги (наприклад, показник виживаності після 2 років, зменшення болю до певного завчасно встановленого рівня, певне сповільнення зниження когнітивних здібностей) та (В) побічних явищ певного ступеня вираженості. Ці показники співвідношення пацієнтів, у яких виявлено корисні чи шкідливі реакції, можна відобразити у вигляді кількості пролікованих хворих на одного вилікуваного (*англ.* number needed to treat, NNT – кількість пацієнтів, яких необхідно пролікувати для того, щоб в одного з них спостерігався необхідний вплив – корисний чи побічний). Наприклад, у нещодавньому дослідженні впливу антидепресантів на зниження болю, де лікарський засіб порівнювався із плацебо, результати були такі: для показника користі (досягнення визначеного рівня полегшення болю) NNT = 3; для незначних побічних явищ NNT = 3; для значних побічних явищ NNT = 22. Тож, із 100 пацієнтів, які проходили лікування засобом, у середньому у 33 буде спостерігатися зменшення вираженості болю, 33 стикнуться із незначними побічними явищами, й у 4 чи 5 будуть прояви значних побічних явищ; ця інформація є корисною для прийняття зваженого терапевтичного рішення. Однією з переваг такого типу аналізу є те, що при оцінюванні користі він може брати до уваги базову тяжкість захворювання. Таким чином, якщо лікарський засіб А удвічі знижує

Визначення ризику та користі



- **Терапевтичний індекс** – показник, що являє собою співвідношення летальної для 50 % популяції дози до ефективної для 50 % популяції дози, є показником безпеки засобу, але таким, що лише частково задовольняє клініцистів з таких причин:
 - він ґрунтується на даних токсичного впливу на тварин, і це може не відображати форму токсичності чи побічні явища, що є клінічно важливими;
 - у такому методі не беруться до уваги ідіосинкратичні реакції токсичності;
- Доступні більш складні методи аналізу співвідношення «користь–ризик» засобу в клінічних умовах використання, і в них включено принцип оцінки кількості пролікованих хворих на одного вилікуваного (NNT).

летальність захворювання, яке зазвичай завершується смертю (скажімо, знижує показник з 50 до 25 %), NNT щодо врятування одного життя складає 4; якщо препарат В удвічі знижує летальність захворювання, яке рідко завершується смертю (скажімо, знижує показник з 5 до 2,5 %), то NNT щодо врятування одного життя складає 40. Незалежно від інших умов, лікарський засіб А вважається більш цінним за лікарський засіб В, навіть якщо обидва вони на половину скорочують летальність. Таким чином, лікар має розуміти, що для того, аби врятувати одне життя за допомогою лікарського засобу В 40 пацієнтів мають наразитися на ризик побічних явищ, у той час як за допомогою лікарського засобу А на одне врятоване життя на ризик наражається лише 4 людини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Загальна інформація

- Colquhoun D., 1971. Lectures on Biostatistics. Oxford University Press, Oxford. (Стандартний підручник.)
- Kirkwood B.R., Sterne, J.A.C., 2003. Medical Statistics, second ed. Blackwell, Malden. (Зрозумілий підручник для початківців, де представлені принципи статистики та її методи.)
- Walley T., Haycocks A., 1997. Pharmacoeconomics: basic concepts and terminology. Br. J. Clin. Pharmacol. 43, 343–348. (Корисний вступ до аналітичних принципів, які стають все більш важливими для відповідальних осіб у сфері охорони здоров'я.)
- Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., et al. 1988. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 332, 411–415. (Перша публікація, де описується ендотелін – надзвичайно повна характеристика важливого нового медіатора.)

Молекулярні методи

- Lohse M.J., Nuber S., Hoffmann C., 2012. Fluorescence/bioluminescence resonance energy transfer techniques to study G protein-coupled receptor activation and signaling. Pharmacol. Rev. 64, 299–336. (Огляд сучасних методик дослідження на основі флуоресценції функції GPCR.)
- Nygaard R., Zou Y., Dror R.O., et al., 2013. The dynamic process of $\beta(2)$ -adrenergic receptor activation. Cell 152 (3), 532–542. (Огляд, в якому представлено використання сучасних технік спектроскопії, що використовуються для вимірювання впливу лігандів на конформацію рецепторів.)

Тваринні моделі

- Offermanns S., Hein L. (Eds.), 2004. Transgenic models in pharmacology. Handb. Exp. Pharmacol. 159. (Серія всебічних оглядових статей з описом трансгенних моделей мишей, які використовувалися для дослідження різних фармакологічних механізмів та станів захворювання.)
- Risteovski S., 2005. Making better transgenic models: conditional, temporal, and spatial approaches. Mol. Biotechnol. 29, 153–164. (Опис методів контролю трансгенної експресії.)
- Rudolph U., Moehler H., 1999. Genetically modified animals in pharmacological research: future trends. Eur. J. Pharmacol. 375, 327–337. (Гарний огляд застосування трансгенних тварин у фармакологічних дослідженнях, зокрема щодо моделей захворювання.)

Клінічні дослідження

- Beta-blocker Heart Attack Trial Research Group, 1982. A randomised trial of propranolol in patients with acute myocardial infarction. 1. Mortality results. JAMA 247, 1707–1714. (Дослідження, яке було передчасно зупинено після того, як отримали очевидні докази користі.)
- Echt D.S., Liebson P.R., Mitchell L.B., et al., 1991. Mortality and morbidity in patients receiving encainide, flecainide, or placebo. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial. N. Engl. J. Med. 324, 781–788. (Важливе дослідження, яке показало, що протиаритмічні засоби, які мали знизити кількість раптових смертей після серцевого нападу, мали зворотний ефект.)

Відкриття та розробка ліків

СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

З розвитком фармацевтичної промисловості до кінця XIX ст. відкриття лікарських засобів стало високоспеціалізованим та керованим процесом і перейшло від винахідливих лікарів до науковців, найнятих із цієї метою. Сучасна терапія та фармакологія переважно ґрунтуються на лікарських засобах, створених у лабораторіях фармацевтичних компаній, – без них і практика терапії, і наука фармакологія були б лише блідою подобою того, чим вони стали.

У цьому розділі ми описуємо основні етапи процесу, а саме (1) фазу відкриття, тобто визначення нової хімічної сполуки як потенційного лікувального засобу, та (2) фазу розробки, під час якої перевіряють безпеку та ефективність цієї сполуки за одним або кількома клінічними показаннями та придатність до створення відповідної рецептури й лікарської форми. Мета – досягти реєстрації одним або кількома регуляторними органами влади, що уможливить продаж лікарського засобу на законних підставах як ліків для вживання людиною.

Наш матеріал стислий і поверховий, а детальнішу інформацію можна знайти в інших публікаціях (Hill & Rang, 2013).

ЕТАПИ ПРОЄКТУ

На рис. 60.1 ідеалізовано показано етапи «типового» проєкту, спрямованого на виробництво придатного для продажу лікарського засобу для особливої медичної потреби (наприклад, уповільнення прогресування хвороби Паркінсона чи серцевої недостатності або для лікування резистентної інфекції).

Загалом цей процес можна поділити на три основні стадії:

1. *Відкриття лікарського засобу*, коли молекули-кандидати обирають на основі їхніх фармакологічних властивостей.
2. *Доклінічна розробка*, під час якої відбувається широкий спектр доклінічних досліджень (наприклад, тестування на токсичність, фармакокінетичний/фармакодинамічний аналіз та рецептура).
3. *Клінічна розробка*, упродовж якої перевіряють ефективність, побічні ефекти та потенційну небезпеку відібраної сполуки на добровольцях і пацієнтах.

Ці етапи не обов'язково мають саме таку послідовність, як показано на рис. 60.1, але зазвичай перекривають один одного.

ЕТАП ВІДКРИТТЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Коли завданням планування проєкту є відкриття нового препарату для лікування, скажімо, хвороби Паркінсона, то з чого починати? Якщо припустити, що ми шукаємо новий лікарський засіб, а не розробляємо дещо вдосконалену версію вже наявного¹, то спочатку потрібно обрати нову молекулярну мішень.

ВИБІР МІШЕНІ

Як було зазначено в розд. 2, мішенями для лікарських засобів, лише з деякими винятками, є функціональні білки (наприклад, рецептори, ферменти, транспортні білки). Хоча в минулому програми відкриття ліків часто успішно ґрунтувалися на вимірюванні комплексної реакції *in vivo*, такої як попередження викликаних з експериментальною метою судом, зниження рівня цукру в крові або пригнічення запальної реакції – без потреби попереднього визначення мішені для лікарського засобу, але в наш час це рідкість, і першим кроком є *ідентифікація мішені*. Мішень найчастіше встановлюють на основі біологічних даних. Наприклад, було відомо, що інгібування ангіотензинперетворювального ферменту знижує артеріальний тиск, пригнічуючи утворення ангіотензину II, тому був сенс шукати антагоністів судинних рецепторів до ангіотензину II, і відповідно, успішною стала серія антигіпертензивних препаратів «сартанів» (розд. 23). Так само й дані, що рак грудної залози часто залежить від естрогенів, зумовили розробку інгібіторів ароматази, таких як **анастрозол**, що перешкоджає синтезу естрогену. Нещодавне вивчення 1194 лікарських засобів для людей, затверджених FDA (див.: Santos et al., 2017), показало, що загалом вони впливали на 893 мішені, з яких 667 були білками людини (549 мішеней для синтетичних низькомолекулярних лікарських засобів і 146 – для біофармацевтичних препаратів), а ще 189 мішеней – білками патогенних збудників. Однак є багато інших білків, що, як

¹ Багато комерційно успішних препаратів у минулому виникали саме з таких проєктів «терапевтичних аналогів»; прикладами є багато лікарських засобів, що блокують β-адренорецептори, розроблених після пропранололу, та «триптани», які з'явилися після впровадження суматриптану для лікування мігрені. Невеликих поліпшень (наприклад, у фармакокінетиці або побічних ефектах) у поєднанні з агресивним маркетингом часто виявлялося достатньо, однак бар'єри для реєстрації лікарських засобів стають все вищими, тому акцент змістився на розробку інноваційних (перших у своєму класі) препаратів, спрямованих на нові молекулярні мішені.

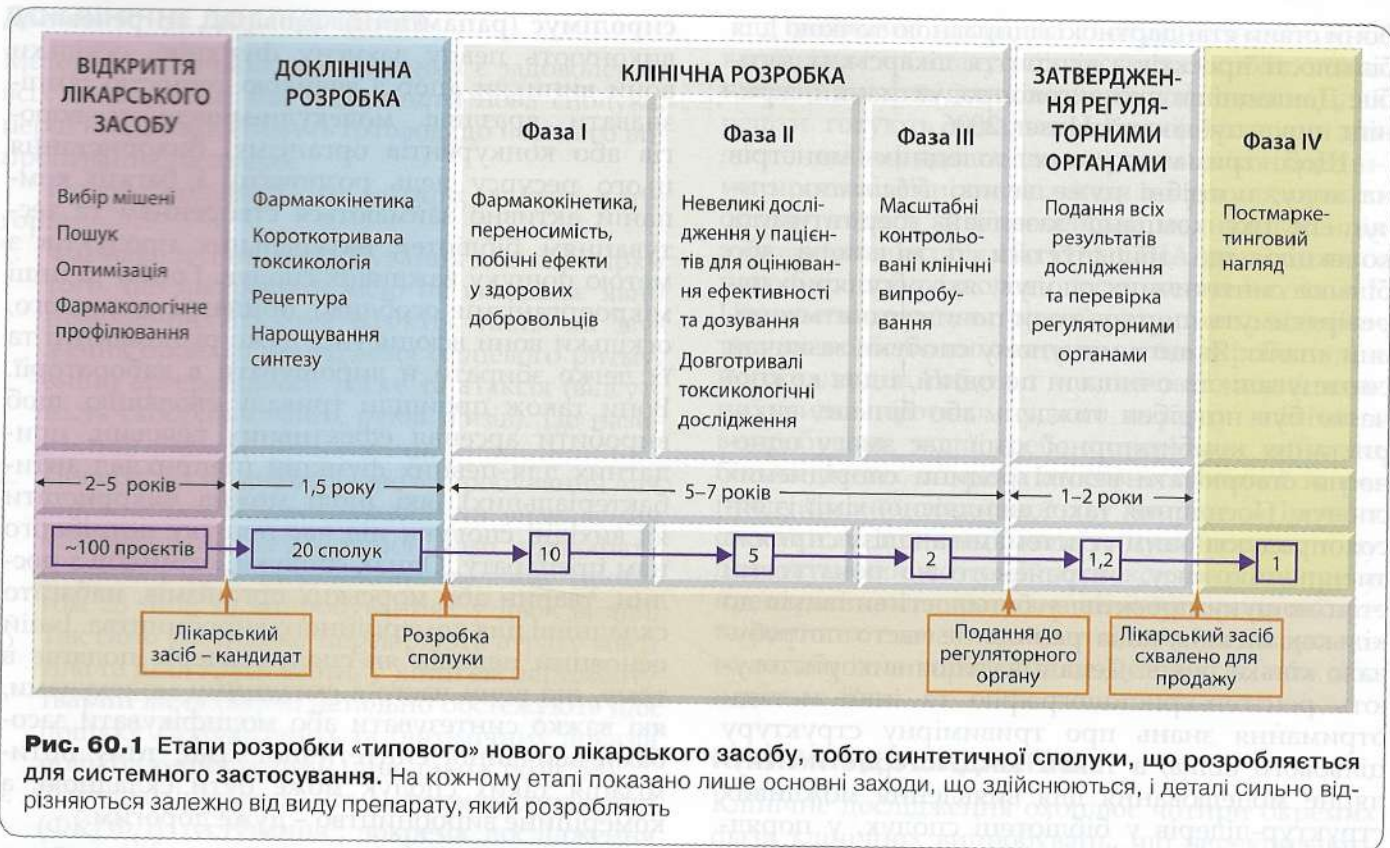


Рис. 60.1 Етапи розробки «типового» нового лікарського засобу, тобто синтетичної сполуки, що розробляється для системного застосування. На кожному етапі показано лише основні заходи, що здійснюються, і деталі сильно відрізняються залежно від виду препарату, який розробляють

вважають, відіграють певну роль при захворюванні (їх кількість, за різними оцінками, коливається від кількох сотень до кількох тисяч; див.: Betz, 2005; <http://www.guidetopharmacology.org/lists.jsp>), для яких досі немає відповідного лікарського засобу. Багато з них є потенційними вихідними пунктами для відкриття ліків і очікують терапевтичного застосування. Вибір ефективної й такої, що піддається лікуванню, мішені з їх безлічі є серйозним викликом.

Звичайна біологічна мудрість, що спирається на багатий фонд знань про механізми захворювання та шляхи хімічних сигналів, у поєднанні з геномними даними лежить в основі того, які нові мішені обираються найчастіше. Такі дисципліни, як геноміка, біоінформатика, протеоміка та системний аналіз, відіграють дедалі більшу роль, відкриваючи нові білки, що беруть участь у хімічній сигналізації, нові гени, задіяні в захворюванні, та нові моделі прогресування захворювання. Через брак місця ми не розглядаємо тут цю важливу тему; зацікавлені читачі можуть звернутись до детальніших описів (Lindsay, 2003; Kramer & Cohen, 2004; Hill & Rang, 2013; Cutler & Voshol, 2015; Kuepfer & Schuppert, 2016).

Загалом, очевидно, що в осяжному майбутньому є широкі біологічні можливості щодо нових мішеней для терапевтично інноваційних лікарських засобів. Біологія та первинна фармакологія не обмежують інновації, на відміну від інших факторів, наприклад невдалого вибору мішені або появи непередбачуваних побічних ефектів під час клінічних випробувань, вартості та складності відкриття й розробки ліків у межах

економіки охорони здоров'я та все суворіших регуляторних перешкод.

ПОШУК СПОЛУКИ-ЛІДЕРА

Коли буде прийнято рішення щодо біохімічної мішені та оцінено доцільність проекту, наступним кроком стає пошук *сполуки-лідера*. Тут ми зосередимось на сполуках-лідерах, які походять із синтетичної хімії. Розробку біофармацевтичних препаратів описано далі та в розд. 5. Загалом пошук сполуки передбачає клонування та експресію білка мішені – зазвичай людської форми, тому що варіація послідовності між видами часто пов'язана з фармакологічними відмінностями, і важливо оптимізувати сполуку для її активності саме в людини. Далі потрібно розробити систему аналізу, що дає змогу вимірювати функціональну активність цільового білка. Це може бути безклітинний ферментний аналіз, зв'язування на мембранній основі або аналіз клітинної відповіді. Система аналізу має бути спроектована для автоматичного запуску, якщо це можливо, з оптичним зчитуванням (наприклад, флуоресценція або оптична поглинальна здатність), у форматі мініатюрної багатолункової пластини (доступні версії з 96, 384, 1536 або 3456 лунками) з міркувань швидкості та економічності.

Нині звичайними у фармацевтичній промисловості є роботизовані аналітичні установки, здатні випробовувати десятки тисяч сполук на день², проводячи кілька паралельних аналізів.

² Можливим є тестування до 100 000 сполук на день, відоме як скринінг надвисокої продуктивності.

Вони стали стандартною відправною точкою для більшості проектів з відкриття лікарських засобів. Докладніше про високопродуктивний скринінг див. у публікації: Huser, 2006.

Щоб тримати таких голодних монстрів на ходу, потрібні дуже великі бібліотеки сполук. Великі компанії зазвичай зберігатимуть колекцію, що збільшується, з мільйона або більше синтетичних сполук, які регулярно перевірятимуть щоразу, коли починатиметься новий аналіз. Якщо в минулому сполуки зазвичай синтезували та очищали по одній, і для кожної часто був потрібен тиждень або більше, використання комбінаторної хімії дає змогу одночасно створювати великі родини споріднених сполук. Поєднання такої швидкісної хімії із високопродуктивними системами аналізу сприяло зменшенню часу, витраченого на початковий етап пошуку проектів, у більшості випадків до кількох місяців, хоча раніше це часто потребувало кілька років. Дедалі частіше використовують рентген-кристалографію та інші методи отримання знань про тривимірну структуру цільового білка, а також комп'ютерне молекулярне моделювання для виявлення можливих структур-лідерів у бібліотеці сполук, у порядку зменшення кількості сполук, що підлягають скринінгу. Молекулярне моделювання також можна використовувати для скринінгу величезної кількості гіпотетичних – ще не синтезованих – молекул, що спрямовує синтез та скринінг нових родин сполук. Удосконалений у такий спосіб скринінг часто дає змогу успішно визначити сполуки, які мають відповідну фармакологічну активність і зазнають подальшої хімічної модифікації.

«Хіти», знайдені при початковому скринінгу, часто виявляються молекулами, що мають небажані властивості у препараті, зокрема надмірну молекулярну масу чи полярність або групи, пов'язані з токсичністю. Для усунення таких сполук часто застосовують комп'ютерну «попередню перевірку» бібліотек сполук.

Виявлені при початковому скринінгу «хіти» використовують як основу для підготовки наборів гомологічних сполук за допомогою комбінаторної хімії для встановлення критичних структурних ознак, необхідних для вибіркового зв'язування з мішенню. Для ідентифікації однієї або кількох сполук-лідерів для наступної стадії зазвичай потрібно кілька таких інтерактивних циклів синтезу та скринінгу.

Натуральні продукти як провідні сполуки

Історично природні сполуки, отримані переважно з грибкових і рослинних джерел, виявлялись плідним ресурсом для нових терапевтичних засобів, особливо у сфері протипухлинних, протипухлинних та імуносупресивних препаратів. Це, зокрема, **пеніцилін**, **стрептоміцин** та багато інших антибіотиків; алкалоїди барвінку; **паклітаксел**; **циклоспорин** і

сиролімус (рапаміцин). Імовірно, ці речовини виконують певну захисну функцію, оскільки вони виникли, щоб з великою точністю розпізнавати вразливі молекули-мішені у ворогів або конкурентів організму. Використання цього ресурсу ледь розпочато, і багато компаній активно займаються створенням та тестуванням бібліотек натуральних продуктів з метою пошуку важливих сполук. Гриби та інші мікроорганізми особливо придатні для цього, оскільки вони всюдисущі, дуже різноманітні та їх легко збирати й вирощувати в лабораторії. Вони також пройшли тривалу еволюцію, щоб виробити арсенал ефективних речовин, придатних для певних функцій (наприклад антибактеріальних), які іноді можна використати як вихідні сполуки під час пошуку потрібного нам препарату. Однак сполуки, отримані з рослин, тварин або морських організмів, набагато складніші для комерційного виробництва. Їхній основний недолік як сполук-лідерів полягає в тому, що вони часто є складними молекулами, які важко синтезувати або модифікувати засобами звичайної синтетичної хімії, тому оптимізація таких сполук може бути складною, а комерційне виробництво – дуже дорогим.

ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОВІДНИХ СПОЛУК

Провідні сполуки, знайдені шляхом скринінгу, є основою для наступного етапу оптимізації сполук, мета якого (зазвичай) – підвищення ефективності сполуки щодо її мішені та оптимізація її інших характеристик, таких як селективність і фармакокінетичні властивості. На цій фазі застосовують тести, що охоплюють ширший діапазон аналізів у різних системах, зокрема дослідження для вимірювання активності та тривалості дії сполук *in vivo* (де це можливо – на тваринних моделях, що імітують аспекти клінічного стану; див. розд. 8), перевірка наявності небажаних ефектів у тварин, доказів генотоксичності та, як правило, перорального застосування. Метою етапу оптимізації провідних сполук є визначення одного або декількох кандидатів на статус лікарського засобу, придатних для подальшого дослідження.

Як показано на рис. 60.1, лише один із п'яти проектів приводить до створення кандидата на статус лікарського засобу, і це може тривати до 5 років. Найпоширенішою проблемою є те, що оптимізація провідних сполук виявляється неможливою; незважаючи на дуже винахідливу та неперевершену хімію, провідні сполуки, як антисоціальні підлітки, відмовляються кидати свої шкідливі звички. В інших випадках кандидати, хоч і здійснюють бажаний вплив на молекулу-мішень і не мають інших явних дефектів, не виявляють очікуваних ефектів на тваринних моделях захворювання, і це свідчить про те, що мішень, ймовірно, не буде корисною також і в людей. Дієва меншість препаратів переходить до наступної фази – доклінічного дослідження.

ДОКЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою доклінічного дослідження є задоволення всіх вимог, яким має відповідати нова сполука, перш ніж її вважатимуть готовою до першого випробування на людях.

Процес поділяють на чотири основні категорії:

1. Фармакологічні випробування для перевірки того, що лікарський засіб не викликає явно небезпечних гострих ефектів, таких як звуження бронхів, порушення серцевого ритму, зміни артеріального тиску та атаксія (відсутність скоординованих рухів м'язів). Це називається *фармакологією безпеки*.
2. Попереднє токсикологічне випробування для виключення генотоксичності та визначення максимальної нетоксичної дози препарату (зазвичай при щоденному введенні протягом 28 днів та випробуваннях у двох видів). Так само регулярно перевіряють втрату маси тіла та інші грубі зміни. У кінці експерименту тварин після смерті детально обстежують для пошуку гістологічних та біохімічних доказів пошкодження тканин (див. також розд. 58).
3. Фармакокінетичні та фармакодинамічні (ФК/ФД) тестування³, зокрема дослідження абсорбції, розподілу, метаболізму та елімінації (*дослідження ADME*, від англ. absorption, metabolism, distribution and elimination) у видів лабораторних тварин, яких використовують для токсикологічного тестування, для встановлення зв'язку фармакологічних і токсикологічних ефектів із концентрацією у плазмі та тривалістю впливу препарату.
4. Хімічна та фармацевтична розробка для оцінювання можливості масштабного синтезу та очищення, стабільності сполуки за різних умов та для розроблення рецептури, придатної для клінічних досліджень.

Значну частину процесів доклінічного дослідження, особливо діяльність, пов'язану з питаннями безпеки, виконують згідно з офіційним операційним кодексом, відомим як «*Належна лабораторна практика*» (англ. Good Laboratory Practice, GLP), який охоплює такі аспекти, як процедури ведення обліку, аналіз даних, калібрування приладів та навчання персоналу. Метою GLP є усунення людських помилок, наскільки це можливо, та забезпечення достовірності даних, що подаються до регуляторного органу, а лабораторії регулярно контролюються на відповідність стандартам GLP. Суворі дисципліна, застосовувана при роботі за цим кодексом, здебільшого погано підходить для творчих досліджень, необхідних на ранніх етапах відкриття ліків, тому стандарти GLP зазвичай не впроваджують, поки проекти не вийдуть за межі фази відкриття.

³ Фармакокінетика – це шляхи, за допомогою яких організм змінює лікарські засоби, тоді як фармакодинаміка – це те, як лікарські засоби впливають на організм.

Приблизно половина сполук, визначених як кандидати на статус лікарських засобів, зазнає невдачі на фазі доклінічного дослідження; для решти готують детальне досьє («брошуру для дослідників») для подання разом із конкретними протоколами дослідження до регуляторного органу, такого як Європейська медична агенція з лікарських засобів або FDA США, дозволу яких потрібні, щоб розпочати дослідження на людях⁴. Це нелегко, а регуляторний орган може відмовити у дозволі або вимагати подальшої роботи для його надання. Робота з доклінічного дослідження триває протягом усього періоду клінічних випробувань, коли треба згенерувати набагато більше даних, зокрема стосовно тривалої та репродуктивної токсичності у тварин. «Провал» сполуки на цій стадії коштує дуже дорого, тому для усунення потенційно токсичних сполук у препараті докладають значних зусиль на якомога раніших етапах процесу відкриття лікарського засобу з використанням методів *in vitro* або навіть *in silico*.

КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічне дослідження охоплює чотири окремих фази клінічних випробувань, що перекривають одна одну (див. розд. 8). Детальнішу інформацію див. у публікації: Friedman et al., 2010.

- *Дослідження I фази* проводять на невеликій групі добровольців (зазвичай 20–80 осіб) – часто здорових молодих чоловіків, а іноді пацієнтів, і їх мета – перевірити ознаки будь-яких потенційно небезпечних наслідків для серцево-судинної⁵, дихальної, гепато-біліарної систем або функції нирок; *переносимість* (чи викликає препарат які-небудь неприємні симптоми, наприклад головний біль, нудоту, сонливість); і *фармакокінетичні властивості* (чи добре всмоктується препарат, чи впливає на всмоктування їжа, як із часом змінюється концентрація в плазмі, чи є докази накопичення або нелінійної кінетики). Під час досліджень I фази також можуть перевіряти фармакодинамічні ефекти у добровольців, які іноді називають дослідженнями доказів концепції (наприклад, чи нова анальгетична сполука блокує індукований з експериментальною метою біль у людини, як змінюється бажаний ефект з дозою). Так само як регуляторні органи вимагають дослідження GLP, клінічні випробування необхідно проводити

⁴ Правила, які регулюватимуть ліцензування ліків у Великій Британії після брекзиту, ще не визначено.

⁵ Подовження інтервалу Q–T, ознака потенційно небезпечних серцевих аритмій (див. розд. 22), є поширеною причиною невдачі на ранніх етапах розробки, і регуляторні органи вимагають проведення великих та дорогих досліджень, щоб перевірити цей ризик. Сьогодні такі дослідження зазвичай проводять на клітинах, які експресують hERG (людський ген, пов'язаний з Ether-à-go-go), що продукує калієвий канал Kv11.1. Препарати, що пригнічують активність hERG-каналу, регулярно перевіряють, оскільки це означає фатальний побічний ефект подовженого інтервалу Q–T.

в суворих умовах належної клінічної практики (англ. Good Clinical Practice, GCP).

- Дослідження II фази проводять на групах пацієнтів (зазвичай 100–300 осіб), і вони призначені для з'ясування клінічно корисних фармакодинамічних ефектів у пацієнтів, а якщо вони підтвердяться, то потрібно встановити дозовий режим, який буде використано в остаточному дослідженні фази III. Часто такі дослідження охоплюють кілька різних клінічних розладів (наприклад, депресію, тривожні стани та фобії), щоб виявити можливі терапевтичні показання для нової сполуки та необхідні дози. При вивченні нових мішеней, поки не завершаться випробування II фази, команда не дізнається, чи правильна її початкова гіпотеза, і частою причиною невдачі є відсутність очікуваного ефекту.
- Дослідження III фази є остаточними подвійними сліпими рандомізованими, їх зазвичай проводять як багатоцентрові випробування на тисячах пацієнтів, вони спрямовані на порівняння нового препарату із загальноживаною альтернативою або плацебо. Вони надзвичайно дорогі, їх складно організувати і для їх завершення часто потрібні роки, особливо якщо лікування призначене для уповільнення прогресування хронічного захворювання. Нерідко бувають випадки, коли лікарські засоби, які здавалися високоефективними в обмежених групах пацієнтів під час II фази, були набагато менш ефективними за більш суворих умов випробувань III фази.

▼ Як згадувалося раніше, проведення випробувань має відповідати розробленому кодексу, відомому як GCP, що охоплює кожну деталь групи пацієнтів, методи збирання даних, запис інформації, статистичний аналіз та документацію⁶.

На III фазі потрібен *фармакоекономічний аналіз* (див. розд. 1), щоб оцінити не лише клінічні, але й економічні переваги нового лікування.

Наприкінці III фази препарат буде передано до відповідного регуляторного органу для ліцензування. Досє, необхідне для цього, є великим та детальним зведенням доклінічних і клінічних даних. Оцінювання регуляторним органом зазвичай займає рік або більше, і часто виникають подальші затримки, коли подані аспекти потрібно уточнити або необхідні додаткові дані. Зрештою близько двох третин поданих документів одержують схвалення для продажу. Загалом лише 11,5 % сполук, що переходять у I фазу, врешті-решт отримують дозвіл (див.: Munos, 2009). Збільшення цієї частки шляхом кращого відбору сполук на лабораторному етапі є одним з основних складних завдань для фармацевтичної промисловості.

- Дослідження IV фази охоплюють обов'язковий постмаркетинговий нагляд, призначений для виявлення будь-яких рідкісних або довгострокових побічних ефектів, що виникають вна-

слідок застосування препарату в клінічних умовах у багатьох тисяч пацієнтів. Такі події можуть вимагати обмеження використання препарату певними групами пацієнтів або навіть відміни препарату⁷.

Розкриття та публікація даних випробувань

Останнім часом висловлюють занепокоєння, що дані клінічних випробувань, які показали негативні або непереконливі результати, публікують рідше, ніж інформацію про позитивні результати та сприятливіші враження про клінічну ефективність нового препарату. Для того щоб усі дані, позитивні та негативні, були оприлюднені та доступні для регуляторних органів і дослідників, нині обов'язково реєструють початок будь-якого випробування на людях і повністю оприлюднюють результати після завершення випробування. Складне питання, чи потрібно вимагати дані щодо всіх випробувань ліків, зареєстрованих раніше. Доступність минулих даних, більшість із яких перебувають у формі паперових записів у запиленіх сховищах, і вартість виконання цих пошуків є серйозними проблемами.

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ПРЕПАРАТИ

«Біофармацевтичні препарати», тобто терапевтичні засоби, вироблені за біотехнологією, а не методами традиційної синтетичної хімії, розглянуто в розд. 5. Такі терапевтичні засоби нині становлять близько 30 % нових продуктів, що реєструються щороку. Принципи, покладені в основу розробки та тестування біофармацевтичних препаратів, здебільшого такі самі, як і для синтетичних лікарських засобів⁸. На практиці біофармацевтичні препарати зазвичай мають менше токсикологічних проблем, ніж синтетичні лікарські засоби, але натомість більше труднощів, пов'язаних з виробництвом, контролем якості, імуногенністю та доставкою ліків. Детальні висвітлення цієї спеціалізованої галузевої особливості можна знайти у публікаціях: Walsh, 2003; Revers and Furzcon, 2010. У 2017 р. було схвалено перші продукти для генної терапії бічного аміотрофічного склерозу та для клітинної терапії прогресуючого раку (див. розд. 57) – і це важливий ключовий момент.

⁷ Останніми гучними випадками є скасування дозволу для рофекоксибу (інгібітор циклооксигенази-2; див. розд. 27) через те, що було виявлено (у III фазі випробування за новим показанням) збільшення частоти серцевих нападів, та церивастатину (розд. 24) – препарату, який знижує рівень холестерину, що спричинив серйозне пошкодження м'язів у кількох пацієнтів.

⁸ Серйозний токсичний вплив на людей-добровольців під час I фази випробувань 2006 р. моноклонального антитіла TGN 1412 (див. розд. 5), показав, що на цей загальний принцип не можна покладатися, і спричинив суттєве посилення стандартів (і тимчасове уповільнення розробки біофармацевтичних препаратів).

⁶ Подібних суворих норм необхідно дотримуватись під час лабораторних досліджень, щоб визначити безпеку (Належна лабораторна практика; див. текст) та виробництво ліків (Належна виробнича практика; GMP).

КОМЕРЦІЙНІ АСПЕКТИ

На рис. 60.1 показано приблизний час, потрібний для такого проекту, та коефіцієнт вибуття учасників з дослідження (на кожному етапі та загалом) на основі останніх даних, отриманих від кількох великих фармацевтичних компаній. Основними ідеями є такі: 1) це бізнес з високим ризиком, і лише один проект відкриття ліків з 50 та одна розробка сполуки з 10 досягли мети поставити новий препарат на ринок; 2) це потребує багато часу – в середньому близько 12 років; 3) розробка одного препарату пригломшливо багато коштує, а саме – 3–4 млрд дол. США за лікарський засіб (Munos, 2009; DiMasi et al., 2016)⁹. Для будь-якого одного проекту витрати швидко зростають, якщо в розробці досягнуто прогресу: випробування III фази та довгострокові токсикологічні дослідження є особливо дорогими. Фактор часу має вирішальне значення, оскільки новий препарат зазвичай має бути запатентовано наприкінці фази відкриття та періоду ексклюзивності (протягом 20 років у більшості країн), упродовж якого компанія вільна від конкуренції на ринку. Через 20 років термін дії патенту закінчується, й інші компанії, які не мали витрат на розробку, можуть виготовляти та продавати лікарські засоби набагато дешевше, тому від того моменту доходи компанії-розробника швидко зменшуються. Термін дії патентів на багато прибуткових лікарських засобів закінчився 2018 р., що додає ускладнень галузі. Скорочення часу розробки після патентування є однією з головних проблем для всіх компаній, але поки що ця цифра залишається незмінною – від 10 років, частково тому, що регуляторні органи потребують додаткових клінічних даних, перш ніж видати ліцензію. На практиці лише один лікарський засіб з трьох, що виходять на ринок, приносить достатній дохід для покриття витрат на його розробку. Успіх компанії спирається на цей єдиний препарат, прибутку від якого достатньо, щоб компенсувати витрати на решту¹⁰.

МАЙБУТНІ ПЕРСПЕКТИВИ

Приблизно з 1990 р. процес відкриття ліків перебуває на порозі суттєвої методологічної революції. Після швидкого збільшення впливу молекулярної біології, геноміки та інформатики на тлі високих очікувань це принесло б чудові дивіденди з погляду швидкості, вартості

та коефіцієнта успіху. Високопродуктивний скринінг безперечно став би потужною технологією пошуку сполук, але загалом вигоди ще не зрозумілі: витрати неухильно зростали, рівень успіху не покращився, і час дослідження не зменшився.

Рисунок 60.2 ілюструє тенденцію щодо кількості нових ліків, випущених на основних ринках світу, яка донедавна неухильно знижувалася, незважаючи на зростання витрат та вдосконалення технологій, що викликало серйозне занепокоєння в галузі. Було багато припущень щодо причин спаду, й оптимістична думка полягала в тому, що впроваджується менше препаратів, але вони якісніші, та що свого впливу ще не здійснила революція в геноміці. Цей оптимізм може бути цілком обґрунтованим, оскільки, як показано на рис. 60.2, кількість дозволів за останні роки обнадійливо збільшилася.

Якщо нові ліки, які розробляються, покращать якість медичної допомоги, то це привід для оптимізму. В останні («дореволюційні») роки синтетичні препарати, спрямовані на нові мішені (наприклад, селективні інгібітори зворотного захоплення серотоніну, статини, інгібітори кінази та кілька моноклональних антитіл), зробили суттєвий внесок у лікування пацієнтів. Здатність нових технологій робити нові мішені доступними для машин з виявлення лікарських засобів реально впливає на медичне обслуговування пацієнтів. Поле для творчості залишається широким, незважаючи на зростання витрат і зниження прибутку, що є викликом для фармацевтичної промисловості.

Тенденції, на які варто звернути увагу, – зростання арсеналу біофармацевтичних препаратів. До останніх успішних прикладів належать моноклональні антитіла, такі як **трастузумаб** (антитіло, спрямоване проти рецептора людського епідермального фактора росту HER2, яке використовують для лікування раку грудної залози, що надмірно експресує цей рецептор; див. розд. 57) та **інфліксимаб** (антитіло до фактора некрозу пухлини, яке застосовують для лікування запальних розладів; див. розд. 27); нині вже доступно багато подібних препаратів, а у планах їх ще більше. Ймовірною зміною також стане використання генотипування для «індивідуалізації» медикаментозного лікування, щоб зменшити ймовірність введення ліків «тим, хто не відповідає» (див.: Evans and Relling, 2004; розд. 12, де узагальнено поточний стан «персоналізованого» лікування). Наслідки відкриття ліків будуть глибокими, оскільки в результаті терапевтичний розподіл (або *стратифікація*, як це іноді називають) популяції пацієнтів означатиме, що ринки зменшуватимуться в розмірі, припиняючи залежність від «блокбастерів», про які було згадано раніше. Водночас клінічні випробування стануть складнішими (і дорожчими), оскільки

⁹ Ці оцінки вартості були серйозно оскаржені коментаторами (див.: Angell, 2004), які стверджують, що фармацевтичні компанії завищували свої витрати в кілька разів, щоб виправдати високі ціни на ліки.

¹⁰ Насправді компанії витрачають принаймні такі самі кошти на маркетинг та адміністративний супровід, як і на дослідження та розробку.

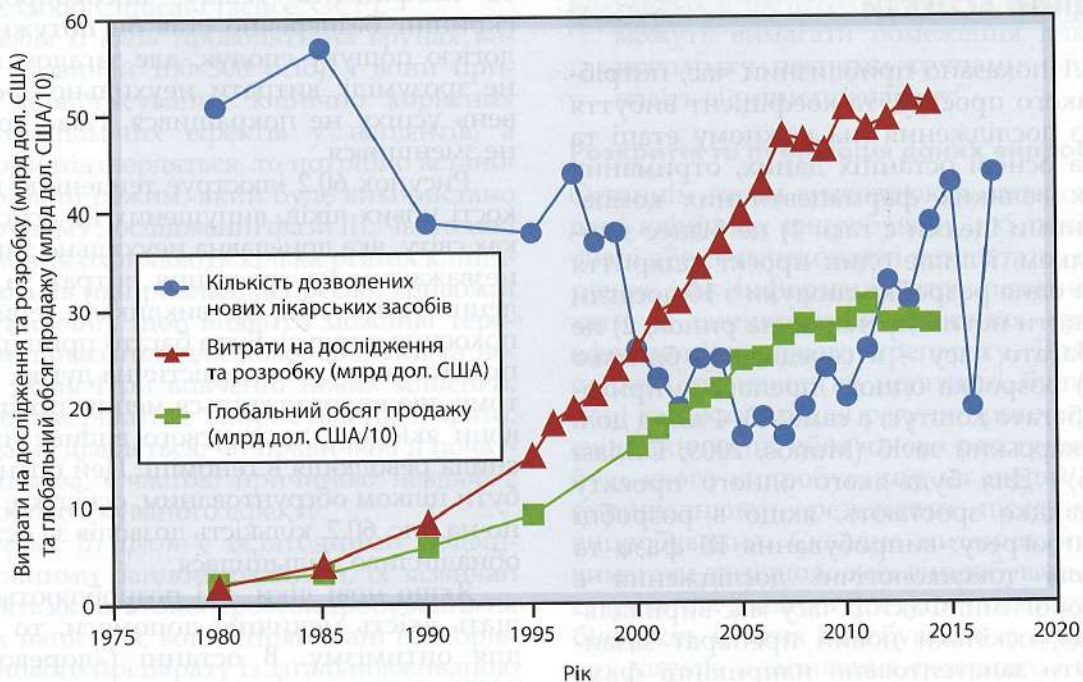


Рис. 60.2 Витрати на дослідження і розробку, реалізацію та реєстрацію нових лікарських засобів, 1980–2017. Реєстрація стосується нових хімічних сполук (зокрема біофармацевтичних препаратів, за винятком нових рецептур та комбінацій наявних зареєстрованих сполук). Кількість реєстрацій до 2010 р. скорочувалась, але в останні роки спостерігається протилежна тенденція. (Дані з різних джерел, зокрема: Centre for Medicines Research, Pharmaceutical Research and Manufacturers Association of America)

ки до проекту дослідження доведеться ввести різні генотипні групи. Сподіваємося, що це покращить терапевтичну ефективність, а не стане шляхом до дешевшої та швидшої розробки ліків. Однак є загальна згода, що нинішній спосіб роботи є комерційно нестійким (див.: Munos, 2009). Витрати та регуляторні вимоги продовжують зростати, і передбачуване використання геноміки для визначення підгруп пацієнтів, які можуть реагувати на певні терапевтичні засоби (див. розд. 12), означатиме фрагментацію ринку, коли ми відходимо від «єдиного лікарського засобу для всіх», що заохочує компанії зосередити свої зусилля на «блокбастерних» препаратах. Буде потрібно більше «нішевих» продуктів, орієнтованих на менші групи пацієнтів, хоча розробка кожного з них коштує стільки ж, скільки й «блокбастерного» лікарського засобу, і пов'язана з такими самими ризиками невдач на більш обмеженому ринку – фактори, які зумовлюють необхідність підвищення цін порівняно з минулим.

ПІДСУМКИ

В останні роки навколо фармацевтичної промисловості часто виникає багато негативу у ЗМІ, і дещо з цього заслужено викликає занепокоєння: ціноутворення та прибуток від продажу ліків, нерозкриття несприятливих даних клінічних випробувань, небажання вирішувати проблеми глобального здоров'я, зокрема такі, як туберкульоз та малярія, агресивні маркетингові практики та багато іншого (див.: Angell, 2004; Goldacre, 2012). Однак слід пам'ятати, що, незважаючи на свої недоліки, ця промисловість відповідає за більшість досягнень у терапії за останні півстоліття, без чого медична допомога фактично стояла б на місці. Інновації в жодному разі не припинились. За останні 5 років близько 30 % нещодавно затверджених препаратів є «першими у своєму класі», тобто по-новому діють на молекулярні мішені, яким раніше не приділяли уваги, а це дає широкі можливості для майбутніх фармакологів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Angell, M., 2004. The Truth About the Drug Companies. Random House, New York. (Потужний випад проти комерційної практики фармацевтичних компаній.)
- Betz, U.A.K., 2005. How many genomics targets can a portfolio afford? *Drug Discov. Today* 10, 1057–1063. (Цікавий аналіз – попри дивну назву – підходів до визначення мішеней у програмах пошуку нових лікарських засобів.)
- Cutler, P., Voshol, H., 2015. Proteomics in pharmaceutical research and development. *Proteomics Clin. Appl.* 9, 643–650. (Детально викладено історію протеоміки та простежено її розвиток у корисний – або навіть необхідний – інструмент пошуку нових лікарських засобів.)
- DiMasi, J.A., Grabowski, H.G., Hansen, R.W., 2016. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs. *J. Health Econ.* 47, 20–33.
- Evans, W.E., Relling, M.V., 2004. Moving towards individualised medicine with pharmacogenomics. *Nature* 429, 464–468. (Гарна оглядова стаття, в якій розглянуто можливий вплив фармакогеноміки на терапію.)
- Friedman, L.M., Furberg, C.D., DeMets, D.L., 2010. *Fundamentals of Clinical Trials*, fourth ed. Mosby, St Louis. (Стандартний підручник.)
- Goldacre, B., 2012. *Bad Pharma*. Fourth Estate, London. (Відверто дискусійний матеріал, місцями небездоганний, що викриває недобросовісну діяльність у галузі.)
- Hill, R.G., Rang, H.P. (Eds.), 2013. *Drug Discovery and Development*, second ed. Elsevier, Amsterdam. (Стислий підручник, в якому описано принципи та практику відкриття й розробки нових лікарських засобів у наш час.)
- Huser, J. (Ed.), 2006. *High Throughput Screening in Drug Discovery*, vol. 35. *Methods and Principles in Drug Discovery*. Wiley-VCH, Weinheim. (Універсальний підручник, що охоплює всі аспекти цієї технології.)
- Kramer, R., Cohen, D., 2004. Functional genomics to new drug targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 965–972. (Описано різні підходи до пошуку нових мішеней для лікарських засобів, починаючи з геномних даних.)
- Kuepfer, L., Schuppert, A., 2016. Systems medicine in pharmaceutical research and development. *Methods Mol. Biol.* 1386, 87–104. (Деяко спеціалізована публікація, переважно буде цікавою тим, хто хоче заглибитися в тему.)
- Lindsay, M.A., 2003. Target discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2, 831–836. (Добре збалансований розгляд застосування підходів геноміки до відкриття нових мішеней для лікарських засобів; реалістичніша позиція, ніж у багатьох.)
- Munos, B., 2009. Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 8, 959–968. (Інформативне узагальнення поточного стану індустрії пошуку нових лікарських засобів, яке чітко показує, що методи роботи, успішні в минулому, більше не є надійними.)
- Santos, R., Ursu, O., Gaulton, A., et al., 2017. A comprehensive map of molecular drug targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* 16, 19–34. (Дуже повний огляд лікарських засобів та їхніх мішеней. Скарбниця корисних даних.)
- Revers, L., Furczon, E., 2010. An introduction to biologics and biosimilars. Part II: subsequent entry biologics: biosame or biodifferent? *Can. Pharm. J.* 143, 184–191.
- Walsh, G., 2003. *Biopharmaceuticals*, second ed. Wiley, Chichester. (Універсальний підручник, що охоплює всі аспекти відкриття, розробки та застосування біофармацевтичних препаратів.)