

ПРИЛОЖЕНИЕ

к Решению Совета
Евразийской экономической комиссии
от 20 г. №

ИЗМЕНЕНИЯ, вносимые в Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза

1. Дополнить указанные Правила главами 31 и 32 следующего содержания:

«Глава 31. Качество, доклинические и клинические аспекты
разработки и изучения лекарственных препаратов
на основе соматических клеток человека

1. Общие положения

1. Развитие в области биологии, биотехнологии и медицины привело к созданию новых терапевтических подходов к лечению ряда заболеваний, путем применения высокотехнологичных лекарственных препаратов, включая лекарственные препараты, содержащие жизнеспособные клетки. Такие лекарственные препараты на основе клеток обладают высоким потенциалом в лечении различных заболеваний, особенно относящихся к неудовлетворенным медицинским потребностям.

2. Лекарственные препараты на основе соматических клеток человека (далее – соматотерапевтические лекарственные препараты) гетерогенны с точки зрения происхождения и типа клеток, а также сложности препарата. Клетки могут быть самообновляющимися стволовыми клетками, более коммитированными клетками-предшественниками (прогениторными клетками) и терминально дифференцированными клетками, выполняющими определенную заданную физиологическую функцию. Клетки могут иметь аутологичное или аллогенное происхождение. Кроме того, они могут быть генетически модифицированными. Клетки могут использоваться самостоятельно, в комплексе с биомолекулами или другими химическими веществами либо в комбинации со структурными материалами (скаффолдами, каркасами, матриксами и другими), рассматриваемыми самостоятельно в качестве медицинских изделий (комбинированные высокотехнологичные лекарственные препараты).

3. К соматотерапевтическим лекарственным препаратам, относятся лекарственные препараты, которые имеют все следующие характеристики:

а) содержат жизнеспособные клетки человека аллогенного или аутологичного происхождения, подвергающиеся обработке (манипуляциям) в ходе производственного процесса и предназначенные, в том числе для проведения клинических исследований;

б) находятся или не находятся в комбинации с неклеточными компонентами;

в) клетки в составе этих лекарственных препаратов являются генетически модифицированными или не являются генетически модифицированными.

2. Сфера применения

4. Положения настоящей главы применимы к различным соматотерапевтическим лекарственным препаратам человека, включая комбинированные препараты. В целях обоснования разработки и планов оценки заявитель вправе использовать риск-ориентированный подход, в качестве основы для подготовки плана управления рисками.

Положения настоящей главы применяются только к клеточному компоненту соматотерапевтических лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки.

Положения настоящей главы также применяются к лекарственным препаратам на основе нежизнеспособных клеток и на основе фрагментов клеток человека.

5. Положения настоящей главы не применяются к лекарственным препаратам на основе ксеногенных клеток.

6. Настоящая глава содержит указания по разработке, производству и контролю качества, а также доклинической и клинической разработке соматотерапевтических лекарственных препаратов, включая лекарственные препараты для терапии соматическими клетками и лекарственные препараты тканевой инженерии. Положения настоящей главы распространяются на лекарственные препараты, заявленные на регистрацию. Заявители, инициирующие проведение клинических исследований, должны учитывать положения настоящей главы.

7. В разделах 4 – 7 настоящей главы рассматриваются критерии и методы оценки всех исходных материалов, дизайн и валидация процесса производства, характеристика соматотерапевтических лекарственных

препаратов, вопросы контроля качества, программы разработки, прослеживаемости и надзора, а также вопросы сопоставимости. Представлены указания относительно использования и описания скаффолдов, матриц, медицинских изделий, каркасов как компонента комбинированных препаратов.

8. К соматотерапевтическим лекарственным препаратам не всегда применимы традиционные фармакологические и токсикологические доклинические исследования. В связи с этим в главе приведены указания по доклиническим исследованиям, необходимым для проверки концепции и установления фармакологических и токсикологических эффектов, предсказывающих ответ на терапию у человека.

9. Поскольку клиническая разработка соматотерапевтических лекарственных препаратов связана с определенными сложностями, в настоящей главе приводятся указания по проведению фармакодинамических и фармакокинетических исследований, исследований по подбору доз, клинической эффективности и безопасности, описываются вопросы, которые необходимо рассмотреть в отношении фармаконадзора и плана управления рисками таких препаратов.

10. Настоящую главу необходимо рассматривать вместе с разделом IV приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы. Донация, заготовка и испытания клеток человека должны отвечать требованиям к донациям, указанным в главах 19 – 20 настоящих Правил.

3. Анализ рисков, связанных с разработкой и производством соматотерапевтических лекарственных препаратов

11. Риск, возникающий в связи с введением соматотерапевтических лекарственных препаратов, зависит от происхождения клеток, производственного процесса, неклеточных компонентов и конкретного терапевтического назначения. Разные соматотерапевтические лекарственные препараты могут представлять разный уровень риска для пациентов, медицинского персонала или общей популяции. В связи с этим план разработки и требования к изучению необходимо адаптировать в индивидуальном порядке, используя многофакторный риск-ориентированный подход (в соответствии с положениями приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы).

12. В начале разработки препарата можно выполнить первоначальный анализ риска, опираясь на существующие знания о типе препарата и его планируемом назначении. Заявитель обязан обновлять анализ на протяжении жизненного цикла препарата по мере сбора сведений для более глубокой характеристики риска.

13. В целях обоснования разработки препарата необходимо использовать всесторонний анализ рисков. Он должен также служить основой для подготовки плана управления рисками в соответствии с Правилами практики фармаконадзора. В частности, результаты всестороннего анализа рисков используются:

а) для выявления факторов риска, связанных с качеством и безопасностью лекарственного препарата;

б) для определения объема и цели получения данных, требуемых во время доклинической и клинической разработки;

в) при определении необходимости действий по минимизации рисков;

г) при определении пострегистрационных действий по управлению рисками, указываемых в плане фармаконадзора.

14. При оценке совокупного риска лекарственного препарата необходимо использовать следующие общие критерии риска (но не ограничиваться ими):

а) происхождение клеток (аутологичное или аллогенное);

б) способность клеток к пролиферации и (или) дифференциации;

в) способность клеток вызывать иммунный ответ (в качестве мишени или эффектора);

г) степень манипуляции над клетками (*in vitro* или *ex vivo* культивирование, активация, дифференцировка, генетическая модификация или криоконсервация);

д) способ введения лекарственного препарата (например, *ex vivo*-перфузия, местная или системная хирургическая операция);

е) продолжительность экспозиции или культивирования (от краткосрочной до длительной) либо продолжительность жизни клеток;

ж) комбинированный состав лекарственного препарата (в составе клетки и биоактивные молекулы или структурные материалы);

з) доступность клинических данных об аналогичных лекарственных препаратах или опыта их применения.

4. Требования к качеству и производству соматотерапевтических лекарственных препаратов

15. В настоящем разделе описываются действия производителей после заготовки клеток и тканей. Производство соматотерапевтических лекарственных препаратов должно соответствовать Правилам производственной практики.

16. Активная фармацевтическая субстанция соматотерапевтического лекарственного препарата состоит из подвергшихся инженерии (манипуляции) клеток и (или) тканей.

17. Дополнительные вещества (например, каркасы, скаффолды, матриксы, медицинские изделия, биоматериалы, биомолекулы и (или) иные компоненты) при их комбинировании в качестве составной части подвергшихся манипуляции клеток считаются частью активной фармацевтической субстанции и тем самым признаются исходными материалами, даже не будучи биологического происхождения.

18. Соматотерапевтические лекарственные препараты часто содержат или состоят из клеточного материала ограниченного объема и многие из них предназначены для применения в порядке, специфичном для пациента. Это может вызывать определенные проблемы, касающиеся планирования испытаний по контролю качества каждого изучаемого препарата. Поскольку настоящая глава охватывает различные соматотерапевтические лекарственные препараты, сложность рассматриваемых процессов может сильно варьировать. В случаях, когда у соматотерапевтических лекарственных препаратов исходный материал, активная фармацевтическая субстанция и лекарственный препарат тесно связаны между собой или почти идентичны, отдельные из перечисленных

ниже требований не могут быть применены. В этих случаях необходимо учитывать только релевантные разделы и требования для данной подгруппы соматотерапевтических лекарственных препаратов.

4.1. Исходные материалы и сырье

19. Производственный процесс соматотерапевтических лекарственных препаратов как правило не предусматривает финишную стерилизацию, стадии очистки, стадии удаления и (или) инактивации вирусов. В связи с этим для всех материалов человеческого или животного происхождения необходимо установить требования к источникам получения исходного материала, его поставщикам и критерии приемлемости и к исходному сырью и к исходным материалам в соответствии с их целевым назначением.

4.1.1. Клетки

20. Донорский клеточный материал от одного донора или пула доноров после обработки может быть:

а) одним изолятом первичных клеток, непосредственно используемым в соматотерапевтическом лекарственном препарате;

б) первичными клетками, культивируемыми в течение нескольких пассажей, перед использованием в соматотерапевтическом лекарственном препарате;

в) клетками из системы банков клеток, состоящей из главного и рабочего банков клеток.

21. В целях надлежащего поддержания и извлечения клеток без какого-либо нарушения их целевых конечных свойств необходимо создать хорошо контролируемую систему хранения клеток. Условия хранения должны быть оптимизированы для обеспечения жизнеспособности клеток, их концентрации, чистоты, стерильности и функциональности. Идентификация (подлинность) должна быть подтверждена соответствующими генотипическими и (или) фенотипическими маркерами, а доля клеток, несущих эти маркеры подлинности, оценивается как признак целевой популяции клеток.

Первичные клетки

22. Специальные требования к донорству, заготовке и испытанию установлены законодательством государств-членов к донорству органов и тканей, а также крови и ее компонентов.

23. Необходимо четко описать и обосновать процедуры и стандарты, используемые для включения кандидатов в доноры или исключения кандидатов в доноры, представляющих высокие риски, или не подходящих по другим причинам. Если необходимо объединить клетки от разных доноров, анализ рисков должен учитывать возможность того, что объединение популяций аллогенных клеток может увеличить риск возникновения нежелательных иммунологических реакций у реципиента и негативно повлиять на терапевтическую эффективность лекарственного препарата. Кроме того, объединение клеток может повышать риск передачи заболеваний. В зависимости от природы источника клеток и тканей следует также учитывать и устранять другие факторы риска, например, предшествующее радиационное облучение.

24. При получении клеток для использования в соматотерапевтическом лекарственном препарате необходимо иметь специальную микробиологическую скрининговую программу, адаптированную под тип клеток, с валидированными методиками испытаний, способными выявлять человеческие инфекционные агенты с достаточной чувствительностью и учитывающими компоненты среды, которые могут повлиять на результаты испытания (например, антибиотики). Если клетки получают из нездоровых тканей, следует установить специфичные для лекарственного препарата критерии приемлемости в соответствии с его целевым назначением.

25. Параметры качества для установления критериев приемлемости для данного органа или тканей, должны быть указаны с учетом общих аспектов, таких как условия транспортировки и хранения.

26. В случае аутологичной донации необходимо обосновать режим испытаний исходного материала, принимая во внимание аутологичное применение.

27. В случае забора и культивирования аллогенных первичных клеток для введения нескольким пациентам необходимо должным образом установить характеристики партии (серии) клеток. К каждой новой партии (серии) клеток необходимо применять одну и ту же программу оценки характеристик.

Система банков для созданных клеточных линий

28. При использовании клеточных линий необходимо во всех возможных случаях сформировать в достаточной степени охарактеризованные главный банк клеток и рабочий банк клеток.

Формирование банка клеток, установление его характеристик и его испытания должны проводиться в соответствии с главой 1 настоящих Правил.

4.1.2. Другие материалы, реагенты и вспомогательные вещества

29. Для сбора, отбора, культивирования или даже генетической либо фенотипической модификации клеток требуются различные материалы, такие, как, например, другие клетки, ферменты, антитела, цитокины, сыворотки и антибиотики. Контакт с такими материалами может также влиять на качество, безопасность и эффективность лекарственного препарата. Как следствие, каждое вещество, используемое в процессе должно быть четко указано и оценено на предмет его пригодности для предполагаемого использования. Необходимо обеспечить микробиологическую чистоту и низкое содержание бактериальных эндотоксинов в таких материалах.

30. Пригодность для предполагаемого использования должна быть оценена и (или) валидирована для материалов, включая клетки, используемые в качестве поддержки роста и адгезии, например питающие (фидерные) клетки.

31. Качество таких биологически активных веществ, добавляемых в питательные среды, как факторы роста, цитокины и антитела, необходимо документировать в отношении подлинности, чистоты, стерильности и биологической активности, а также отсутствия посторонних агентов. Следует минимизировать использование подобных материалов и избегать

использования реагентов (сырья), обладающих сенсibiliзирующим потенциалом, например β -лактамных антибиотиков.

32. В отношении вопросов оценки вирусной безопасности необходимо учитывать положения главы 2 и 4 настоящих Правил. В отношении каждого вещества животного или человеческого происхождения, используемого во время производства соматотерапевтического лекарственного препарата, необходимо соблюдать принципы, изложенные в Фармакопее Союза, а при отсутствии в ней – в фармакопиях государств-членов.

33. Необходимо принимать меры по снижению риска контаминации агентами губчатой энцефалопатии (ГЭ).

34. Если это оправданно составом и способом получения соматотерапевтического лекарственного препарата, при оценке его качества и производстве необходимо применять положения глав 5.1, 5.2 и 10 настоящих Правил.

35. Если исходное сырье (и исходные материалы), реагенты и (или) вспомогательные вещества прошли регистрацию и (или) допущены в обращение на территории Союза или указаны в Фармакопее Союза, необходимо указать соответствующие ссылки в регистрационном досье соматотерапевтического лекарственного препарата.

36. В отношении материалов человеческого или животного происхождения необходимо также добавить следующие сведения:

а) материалы, получаемые от человека (например, альбумин, иммуноглобулины) необходимо оценивать на их пригодность способом, идентичным способу, используемому в отношении лекарственных

препаратов, получаемых из плазмы крови, в соответствии с главами 19 и 20 настоящих Правил.

Необходимо изучить возможность использования альтернативных синтетических реагентов. Если для питательной среды требуется плазма, в целях замены аллогенной сыворотки используется по возможности сыворотка того же донора, у которого были забраны клетки;

б) материалы, получаемые от животных. При использовании клеток или тканей животного происхождения, (например, в качестве вспомогательных клеток), необходимо следовать указаниям в отношении лекарственных препаратов для терапии ксеногенными клетками.

Реагенты животного происхождения могут содержать инфекционные агенты и повышать частоту возникновения нежелательных иммунологических ответов у реципиента. Если применимо, необходимо избегать использования реагентов животного происхождения и заменять их на другие реагенты (например, растительного происхождения или рекомбинантные) с установленным составом.

При использовании бычьей сыворотки необходимо соблюдать меры предосторожности в отношении губчатой энцефалопатии. Предпочтительным является использование облученных сывороток и (или) альтернативных синтетических сред.

При проведении испытаний на вирусную безопасность материалов от других видов животных необходимо оценить присутствие посторонних агентов, на наличие которых должны проводиться испытания в рамках общих и видоспецифичных требований к производству и контролю ветеринарных вакцин для млекопитающих в соответствии с требованиями таблицы 3 главы 2 и главе 21 настоящих Правил;

в) специальные указания по применению исходных материалов генотерапевтических лекарственных препаратов. Если клетки являются генетически модифицированными, необходимо следовать указаниям главы 32 настоящих Правил, в которой приводятся подробные сведения об указании информации по контролю качества, характеристике лекарственного препарата и доклинических исследованиях векторов для переноса генов. Трансформированные клеточные популяции необходимо анализировать на достаточное и воспроизводимое проявление вновь приобретенных характеристик. Необходимо уделять особое внимание уровню и продолжительности экспрессии, а также качеству генного продукта, вырабатываемого клетками. Если применимо и практически осуществимо, новые характеристики клеток должны быть определены количественно и контролироваться.

4.2. Специальные указания по использованию матриц, медицинских изделий, скаффолдов и каркасов в составе комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов

37. Соматотерапевтические лекарственные препараты могут включать структурные компоненты, которые в независимой форме являются медицинскими изделиями. Такие изделия должны отвечать требованиям, актов органов Союза в сфере обращения медицинских изделий и законодательства государства-члена, а информацию о них необходимо указать в заявлении о регистрации лекарственного препарата. При наличии регистрационного удостоверения на медицинское изделие необходимо включить сведения об этом в регистрационное досье лекарственного препарата. Соматотерапевтические лекарственные

препараты могут также включать в себя структурные компоненты, не являющиеся медицинскими изделиями. Все структурные компоненты необходимо подробно охарактеризовать и оценить их пригодность для целевого назначения в соответствии с требованиями приложения № 1 к Правилам регистрации и разделами 4.4 и 5 настоящей главы.

38. Необходимо представить в регистрационном досье описание любых матриц, волокон, гранул или иных материалов, используемых в дополнение к клеткам или в комбинации с ними и подтвердить их строение и функцию химическими, биологическими, физическими (например, структура и деградация) и механическими свойствами. Включение дополнительных биоактивных молекул необходимо также описать в регистрационном досье и оценить их влияние.

4.3. Производственный процесс

39. В целях обеспечения постоянства свойств соматотерапевтического лекарственного препарата необходимо тщательно спланировать и валидировать процесс его производства. Необходимо сформулировать и обосновать требования к стадиям производственного процесса.

40. Необходимо представить подробное описание производства активной фармацевтической субстанции и соматотерапевтического лекарственного препарата. Необходимо описать вид манипуляции, необходимой для обработки клеток, и физиологическую функцию клеток. Необходимо составить блок-схему всего процесса, начиная с биологических жидкостей, ткани или органа либо с банков клеток, отмечая критичные стадии и промежуточные продукты (например, промежуточные

серии клеток), а также рабочие параметры, внутрипроизводственные контроли и критерии приемлемости. Производство комбинированных лекарственных препаратов, состоящих из клеток и матриксов, медицинских изделий, скаффолдов или каркасов, требует дополнительного рассмотрения с позиций взаимодействий «клетки – матрикс (каркас)» и вопросов обеспечения качества лекарственного препарата, связанных с этим взаимодействием. Необходимо отдельно проанализировать влияние биоразлагаемых материалов, которые могут обладать потенциалом изменения окружающих условий (например, увеличения рН) для клеток во время производства или после введения соматотерапевтического лекарственного препарата.

41. Необходимо представить сведения о процедурах, используемых для транспортировки материалов во время процесса производства препарата, включая условия транспортировки и хранения, а также время перерыва между стадиями производства.

42. Производственная зона должна быть физически отделена от зоны заготовки материала. Если в одной и той же производственной зоне обрабатываются и хранятся разные лекарственные препараты на основе тканей и клеток, на каждой стадии производства существует повышенный риск перекрестной контаминации (например, через производственное оборудование или контейнеры для хранения (например, сосуды с жидким азотом)), и поэтому необходимо предусмотреть надлежащие меры контроля для предотвращения перекрестной контаминации.

43. Оборудование и помещения, используемые в производстве соматотерапевтических лекарственных препаратов, должны быть пригодны и квалифицированы для асептического производства. Во всех

возможных случаях в производстве необходимо использовать выделенное, продукт-специфичное или одноразовое оборудование.

4.3.1. Процедуры заготовки клеток

44. Все процедуры приготовления клеток необходимо обосновать с точки зрения их целевого назначения.

45. Необходимо избегать ненадлежащего обращения с клетками или тканями и их неправильную обработку, поскольку это может повредить или нарушить целостность и (или) функциональную активность клеток, тем самым приводя к терапевтической неэффективности. Микробиологический контроль является основополагающим аспектом контроля процесса производства и оценки качества всех соматотерапевтических лекарственных препаратов. Если выполнимо, на выбранных стадиях производства необходимо осуществлять мониторинг культивирования клеток *in vitro*. Культуру необходимо проверять на предмет любой микробной контаминации в соответствии с процедурой культивирования и характеристиками роста клеток.

46. После того, как соответствующие контроли были выполнены и (или) внедрены, биологическая жидкость (ткань, орган) может подвергаться следующим манипуляциям:

а) диссоциации органов или тканей. Необходимо описать и валидировать процедуру получения клеток из органа или ткани (с точки зрения вида фермента, сред и т. д.). Необходимо учитывать степень дезинтеграции, применяемую к ткани, чтобы сохранить планируемую функциональную целостность клеточного препарата и минимизировать

клеточные примеси в препарате (клеточный дебрис, перекрестную контаминацию другими типами клеток);

б) выделению интересующей клеточной популяции. Необходимо описать любую процедуру, используемую для выделения и (или) очистки интересующей клеточной популяции. Ее эффективность следует рассмотреть в совокупности с целевым назначением, а метод (методы) должен быть валидирован;

в) культивированию клеток. Во время культивирования клеток *in vitro* необходимо обратить внимание на обеспечение приемлемого роста выделенных клеток и манипуляции с ними. Чтобы сохранить целостность и контролировать функциональную активность клеток, необходимо правильно спланировать стадии обработки. Процедуры любой манипуляции необходимо подробно документировать и осуществлять тщательный мониторинг в соответствии со специальными контролями процесса. Необходимо четко установить и валидировать продолжительность культивирования клеток и максимальное число пассажей клеток. Необходимо определить значимые генотипические и фенотипические характеристики первичных культур клеток, сформированных клеточных линий в соответствии с главой 1 настоящих Правил и производных клеточных клонов, а также определить их стабильность с точки зрения продолжительности жизни культуры. Необходимо подтвердить постоянство и воспроизводимость процесса культивирования клеток и оптимизировать условия культивирования, включая среды и продолжительность культивирования, с точки зрения предлагаемой клинической (терапевтической) функции клеток.

Необходимо отдельно рассмотреть потенциал роста клеток в ответ на факторы роста, поскольку субпопуляции клеток могут приобретать преимущество в росте при определенных условиях культивирования *in vitro*;

г) модификацию клеток. На клетки можно воздействовать различными методами (физическими, химическими или молекулярно-генетическими). Необходимо всесторонне описать метод, используемый для модификации клеток. В случае генетической модификации клеток необходимо соблюдать требования, установленные главой 32 настоящих Правил;

д) культивирования клеток внутри или на поверхности матрикса, скаффолда, медицинского изделия или каркаса. Если клетки выращиваются внутри или на поверхности матрикса, скаффолда, медицинского изделия либо каркаса, качество комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата, главным образом, определяется надлежаще контролируемым процессом производства. В случае производства комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов процесс культивирования клеток необходимо тщательно валидировать, принимая во внимание влияние медицинского изделия на рост, функцию и целостность клеток. Необходимо также учитывать влияние, которое могут оказать клетки на изделие (например, скорость деградации) в соответствии с указаниями раздела 5 настоящей главы.

4.3.2. Внутрипроизводственный контроль

47. Процесс производства необходимо контролировать при помощи нескольких средств контроля технологического процесса на уровне критических стадий или промежуточных продуктов. Промежуточные клеточные продукты – это продукты, которые поддаются выделению во время процесса производства соматотерапевтических лекарственных препаратов. Необходимо составить спецификации на такие продукты в целях обеспечения воспроизводимости процесса и постоянства свойств соматотерапевтического лекарственного препарата. Необходимо описать испытания и критерии приемлемости. В случае если предусмотрено хранение соматотерапевтического лекарственного препарата, необходимо валидировать условия хранения (например, продолжительность, температуру).

4.3.3. Определение серии

48. Цель определения серии – обеспечить постоянство и прослеживаемость производственного процесса. Необходимо привести четкое определение промышленной серии от источника клеток до маркировки окончательной упаковки (указав размер серии, число пассажей или удвоений клеток, стратегии объединения, систему присвоения номеров серий). Для аутологичных соматотерапевтических лекарственных препаратов в качестве серии необходимо рассматривать произведенный препарат для одного человека, являющегося одновременно и донором для этого лекарственного препарата.

4.3.4. Система упаковки (укупорки)

49. Необходимо описать систему упаковки (укупорки). Необходимо подтвердить совместимость с лекарственным препаратом. Необходимо указать, зарегистрирована ли сама по себе система упаковки (укупорки) в качестве медицинского изделия. Необходимо представить сведения о процедурах стерилизации контейнера и укупорки.

50. Выбор упаковочных материалов необходимо рассматривать как часть фармацевтической разработки. Если компоненты упаковки используются для обеспечения условий транспортировки и (или) применения, необходимо указать соответствующие дополнительные данные по обеспечению указанных функций компонентов упаковки.

4.4. Установление характеристик лекарственного препарата

51. Установление характеристик соматотерапевтического лекарственного препарата должна охватывать все компоненты, содержащиеся в готовом препарате. Установление характеристик соматотерапевтического лекарственного препарата особенно затруднительно для соматотерапевтических лекарственных препаратов, содержащих вместе с клетками матриксы, каркасы, скаффолды и инновационные медицинские изделия. В этом случае, потребуются установление характеристик отдельных компонентов, а также комбинированного лекарственного препарата. Установление характеристик соматотерапевтических лекарственных препаратов включает в себя данные, полученные на протяжении его разработки и (или) процесса производства. Характеристики клеточного и неклеточного

компонентов комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата в процессе объединения могут подвергнуться изменению.

52. Клеточный компонент должен быть подробно охарактеризован с точки зрения идентификации (подлинности), чистоты, активности, жизнеспособности и пригодности для его целевого назначения (если не обосновано иное).

53. Биологическая функция соматотерапевтического лекарственного препарата выражается в биохимическом, метаболическом или иммунологическом действии, а также, например, в структурном замещении поврежденной ткани или органа. В связи с этим установление характеристик активной фармацевтической субстанции с точки зрения ее биологической функции затруднительно. Кроме того, сложно отнести специфический механизм действия на счет определенной молекулярной субстанции, так как чаще всего он зависит от нескольких функциональных свойств клеточных компонентов, чье действие считается «тканеподобным».

54. При установлении характеристик соматотерапевтического лекарственного препарата необходимо учитывать следующее:

- происхождение клеток (аутологичные клетки или аллогенные);
- подверглись ли клетки существенным или минимальным манипуляциям *in vitro*;
- являются ли клетки иммунологически активными или нейтральными;
- пролиферативную способность клеток;
- клетко- или тканеподобная организация и динамическое взаимодействие между клетками и со структурными компонентами;
- целевое назначение лекарственного препарата.

55. Неклеточные компоненты следует охарактеризовать исходя из функции, выполняемой ими в составе лекарственного препарата. Для структурных компонентов, предназначенных поддерживать клеточные компоненты, (например, каркасы, скаффолды и мембраны) необходима идентификация и установление их характеристик с химической и физической точек зрения (например пористости, плотности, микроскопической структуры и размера частиц в соответствии с типом веществ и целевым назначением согласно ГОСТ ISO 10993-18 и ГОСТ ISO/TS 10993-19).

56. Установление характеристик необходимо спланировать таким образом, чтобы позволить установить меры рутинного контроля, применяемые при выпускающем контроле активной фармацевтической субстанции и лекарственного препарата, а также контроли, осуществляемые на нескольких стадиях процесса производства, для гарантии постоянства характеристик серий.

57. Если в качестве компонентов соматотерапевтического лекарственного препарата присутствуют биологически активные молекулы (например, факторы роста, цитокины и т. д.), их необходимо подробно описать и охарактеризовать их взаимодействие с другими компонентами препарата и с окружающими тканями после введения, включая использование соответствующего спектра *in vitro*- и при необходимости – *in vivo*-методов исследования.

4.4.1. Идентификация (подлинность)

Клеточный компонент

58. Необходимо в зависимости от популяции и происхождения клеток установить характеристики подлинности клеточных компонентов с точки зрения фенотипических и (или) генотипических профилей.

59. При рассмотрении фенотипа клеток допускается использовать значимые маркеры (если обосновано). Такие маркеры могут основываться на экспрессии генов, представлении антигенов, биохимической активности, реакции на внешние стимулы, способности вырабатывать биологически активные или другие определяемые молекулы и др. В отношении адгезивных клеток приемлемым является морфологический анализ вместе с другими испытаниями. Если применимо, необходимо представить описание процедур, способных привести к модификации характеристик соматотерапевтического лекарственного препарата, включая адгезию, абсорбцию, деградацию, появлению остатков компонентов питательной среды.

60. В отношении клеточных компонентов аллогенного происхождения подлинность должна включать маркеры гистосовместимости, если применимо, и идентификацию генетических полиморфизмов (например, анализ однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotides polymorphism, SNP) или коротких tandemных повторов (short tandem repeats, STR) с анализом их целевого назначения.

Неклеточные компоненты активной фармацевтической субстанции

61. Необходимо подробно охарактеризовать все неклеточные компоненты и установить параметры их подлинности.

62. Если соматотерапевтический лекарственный препарат содержит отдельное активное вещество в дополнение к клеточному компоненту, для такого активного вещества необходимо установление характеристик с точки зрения идентификации (подлинности) в соответствии с требованиями актов органов Союза в сфере обращения лекарственных средств в зависимости от природы активного вещества, независимо от химического или биологического происхождения.

63. Структурные компоненты, предназначенные поддерживать клеточные компоненты, как например каркасы, скаффолды и мембраны, необходимо идентифицировать и характеризовать в отношении их состава и структурных характеристик.

Комбинированные соматотерапевтические лекарственные препараты

64. В комбинированном соматотерапевтическом лекарственном препарате субстанция для фармацевтического применения может быть образована путем интеграции клеточных и неклеточных компонентов с образованием единого целого. В подобном случае подлинность как клеточного, так и неклеточного компонентов в процессе объединения может измениться. Следовательно, для компонентов в комбинации должен быть установлен особый способ определения подлинности, если не обосновано иное.

4.4.2. Чистота клеток

65. Целевая клеточная популяция может содержать клетки, принадлежащие к другим линиям и (или) стадиям дифференцировки, или клетки, не связанные с целевой популяцией.

66. Если для терапии требуется определенный тип клеток, необходимо определить нежелательные клетки и контролировать их количество в соматотерапевтическом лекарственном препарате с помощью соответствующих спецификаций (установить критерии приемлемости для количества контаминирующих клеток).

67. В случаях, когда для достижения желаемой биологической активности и эффективности лекарственного препарата требуется сложная комбинация клеток, необходимо охарактеризовать эту комбинацию и контролировать ее состав с помощью соответствующих внутрипроизводственных контролей и испытаний выпускающего контроля качества.

68. Независимо от типа клеток, клеточная популяция может быть контаминирована нежизнеспособными клетками. Поскольку жизнеспособность клеток – это важный параметр целостности соматотерапевтического лекарственного препарата, прямо коррелирующий с его биологической активностью, необходимо определить отношение между нежизнеспособными и жизнеспособными клетками и установить для него критерии приемлемости в спецификации.

4.4.3. Примеси

Родственные и производственные примеси

69. Во время производства в соматотерапевтический лекарственный препарат могут попадать (образовываться) в различном количестве родственные и производственные примеси. Необходимо провести испытания соматотерапевтического лекарственного препарата (или отдельных его компонентов, если невозможно по-другому) на содержание любых реагентов (исходного сырья), для которых известна способность оказывать неблагоприятное воздействие на человека, и установить для них критерии приемлемости. Пределы их содержания, установленные в спецификациях необходимо обосновывать содержанием таких примесей, обнаруженным в сериях, использованных в токсикологических и (или) клинических исследованиях.

70. Необходимо тщательно охарактеризовать любой материал, способный во время производства контаминировать лекарственные препараты продуктами деградации, например, биоразлагаемые материалы, и оценить влияние продуктов деградации на клеточный компонент.

71. В случае если в лекарственном препарате используются генетически модифицированные клетки, необходимо проанализировать любые дополнительные белки, продукты экспрессионного вектора, например, факторы устойчивости к антибиотикам, маркеры селекции, и обосновать их присутствие в лекарственном препарате.

Посторонние агенты

72. Критически важным для качества лекарственного препарата аспектом является установление того, что соматотерапевтический лекарственный препарат не содержит посторонних агентов (вирусов, микоплазмы, бактерий, грибов). Контаминация может произойти из исходных материалов или сырья, либо случайно привноситься во время процесса производства. Необходимо провести оценку риска, чтобы оценить возможность реактивации скрытых (интегрированных, покоящихся) форм посторонних агентов. Необходимо выполнить детальные испытания на отсутствие бактерий, грибов и микоплазмы в соматотерапевтическом лекарственном препарате в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза. В случае если короткий срок годности (срок хранения) соматотерапевтического лекарственного препарата не позволяет провести испытания на отсутствие бактерий в соответствии с Фармакопеей Союза, допускается применение альтернативных валидированных методов испытаний (при наличии обоснований).

4.4.4. Активность

73. Необходимо начать разработку подходящего испытания на активность на ранних этапах фармацевтической разработки лекарственного препарата. Подходящее испытание на активность должно быть разработано уже к моменту производства соматотерапевтических лекарственных препаратов для первого клинического исследования. Методику определения активности необходимо валидировать до начала опорных клинических исследований, если не обосновано иное.

Необходимо установить требования к активности в спецификациях на выпуск и на срок годности (срок хранения), при необходимости изменяя их в ходе разработки продукта.

74. Методика, определяющая биологическую активность, должна основываться на предполагаемом биологическом эффекте, который должен быть связан с клиническим ответом на введение соматотерапевтического лекарственного препарата.

75. Допускается предусмотреть два основных вида испытаний на активность:

in vitro-анализы на клеточных системах;

in vivo-анализы на животных моделях.

Такие основные клеточные функции, как жизнеспособность, самообновление, клеточная гибель и дифференцировка, являются значимыми показателями для качества, функциональности и стабильности соматотерапевтических лекарственных препаратов, поэтому необходимо проводить их мониторинг во время производства и при выпускающем контроле с использованием суррогатных маркеров и соответствующей технологии (например, анализ профилей экспрессии генов на микрочипах, проточная иммунофлуоресцентная цитометрия, клонирование клеток, ПЦР и др.). При использовании лабораторных экспериментальных животных моделей допустимо выполнять *in vivo*-анализы.

76. Маркеры, характеризующие чистоту, и маркеры, характеризующие активность соматотерапевтического лекарственного препарата, не должны определяться в одном анализе.

77. В целях адекватного определения активности соматотерапевтического лекарственного препарата во время его

разработки может потребоваться комбинация нескольких аналитических методов. Необходимо учитывать, что определенные виды анализов более подходят для контроля изменений процесса производства, тогда как другие – лучше подходят для испытаний выпускающего контроля качества лекарственного препарата.

Репарация и регенерация тканей

78. Испытание *in vivo* допускается выполнять на животной модели, имитирующей планируемую клиническую репарацию или регенерацию ткани, или может быть иным образом основано на принципе действия (например, эктопическая модель). *In vitro*-анализ должен быть основан на экспрессии маркеров, подтвердивших прямую или непрямую (суррогатные маркеры) корреляцию с планируемой биологической активностью, как, например, маркеры клеточной поверхности, маркеры активации, профиль экспрессии определенных генов. Кроме того, физиологический ответ в определенных условиях (например, дифференцировку в специфичные типы клеток и (или) секрецию тканеспецифичных белков (например, компонентов внеклеточного матрикса)), допускается использовать в качестве базового принципа для испытания на активность. Вместе с тем производители должны обеспечить релевантность метода установления характеристик для планируемого биологического эффекта *in vivo*.

79. Испытание на активность следует выполнять, используя установленное число клеток и по возможности рассчитанное по квалифицированному референтному препарату (внутреннему стандарту). Активность необходимо определять в как промежуток времени, необходимый для получения заранее определенного эффекта (например,

восстановления функции или репарации анатомической структуры), или активность рассчитывается на основе измеренного эффекта за определенный период времени.

Метаболическая или фармакологическая активность

80. Клетки, содержащиеся в соматотерапевтическом лекарственном препарате, могут подвергаться химическому воздействию или генетической модификации *in vitro*, с целью индукции экспрессии целевых белков (например, факторов роста, поверхностных клеточных антигенов или других молекул, для поддержания биологического ответа в течение требуемого времени в новом микроокружении). В связи с этим разрабатываемые испытания активности должны позволить оценить связанные с активностью свойства и параметры активной фармацевтической субстанции, которая может состоять не только из полностью интактных жизнеспособных клеток, но также и других компонентов.

81. Если планируемая биологическая функция соматотерапевтического лекарственного препарата, главным образом, основана на способности клеток секретировать специфичную молекулу (например, для коррекции метаболического нарушения, стимулирования роста, высвобождения метаболита), тогда испытание на активность будет основано на обнаружении вырабатываемых активной молекулы и ожидаемой биологической активности. Испытание может быть выполнено с помощью надежных стандартных качественных и количественных аналитических методов (белковый анализ, идентификация нуклеиновых кислот с помощью технологии анализа нуклеиновых кислот (ТАН),

ВЭЖХ). Функцию той же молекулы можно также изучить на животных модельных системах, предполагая, что активная фармацевтическая субстанция высвобождается из соматотерапевтического лекарственного препарата в биологические жидкости (плазму, цереброспинальную жидкость, мочу или интерстициальную жидкость).

Иммунотерапия

82. Испытания на активность соматотерапевтических лекарственных препаратов, предназначенных для иммунотерапии, основаны на оценке сложных иммунных механизмов, которая затрудняется ввиду мультиантигенного состава лекарственного препарата и присущей ему вариабельностью исходного материала. Для оценки активности иммунотерапевтических соматотерапевтических лекарственных препаратов для лечения рака используются специфические наборы тестов, позволяющие оценить их иммунотропную активность.

4.4.5. Туморогенность

83. Для соматотерапевтических лекарственных препаратов характерно возможное наличие туморогенного потенциала, поскольку трансформация может произойти, прежде всего, в клеточном компоненте препарата (например, вследствие хромосомной нестабильности), который отсутствует в обычных лекарственных препаратах на основе молекул химической или биологической природы, а также существует риск проявления онкогенного потенциала. Если имеются основания предполагать наличие риска клеточной трансформации и последующего

проявления туморогенности, клеточные компоненты необходимо оценивать на предмет их туморогенного потенциала, анализируя, к примеру, их пролиферативную активность, зависимость от экзогенных стимулов, ответа на стимулы апоптоза и модификацию генома. Потребуется испытание на целостность хромосом и туморогенность клеток, получаемых из клеточной культуры или системы банка клеток. При организации испытаний на туморогенность следует руководствоваться положениями главы 1 настоящих Правил и статьей Фармакопеи Союза по клеточным субстратам для производства вакцин для медицинского применения.

4.5. Контроль качества

84. В целях надлежащего контроля качества активной фармацевтической субстанции и (или) соматотерапевтического лекарственного препарата их необходимо подвергать обязательному выпускающему контролю качества на каждом из этих двух уровней. Если это обосновано, допускается сократить испытания на одном уровне при условии выполнения исчерпывающего контроля на другом. Все испытания выпускающего контроля качества необходимо выполнять с помощью методов, валидированных не позднее, чем на момент подачи заявления о регистрации лекарственного препарата.

4.5.1. Критерии выпускающего контроля качества

85. Спецификации на выпуск активной фармацевтической субстанции и соматотерапевтического лекарственного препарата

необходимо составлять на основании параметров, определенных в ходе установления их характеристик. Выбор испытаний является препарат-специфичным и должен определяться производителем.

86. Если не обосновано иное, спецификации на выпуск должны включать идентификацию (подлинность), чистоту, активность, примеси, стерильность, жизнеспособность клеток и общее число клеток. Если структура является основополагающей характеристикой препарата, необходимо определить и обосновать структурные характеристики активной фармацевтической субстанции или соматотерапевтического лекарственного препарата. Если основной функцией соматотерапевтического лекарственного препарата является секреция специфичных белков, должны быть установлены параметры спецификации, касающиеся этих выделяемых белков.

87. Если определенные испытания выпускающего контроля невозможно выполнить на активной фармацевтической субстанции или соматотерапевтическом лекарственном препарате, а только на ключевых промежуточных продуктах и (или) в ходе внутрипроизводственного контроля, это необходимо обосновать. В таких случаях обоснование надлежащего объема контроля качества должно исходить из процесса производства лекарственного препарата, подкрепленного результатами клинического исследования. Такие случаи исключения испытаний выпускающего контроля на активной фармацевтической субстанции или соматотерапевтическом лекарственном препарате включают в себя:

а) отдельные испытания выпускающего контроля, которые невозможно провести по техническим причинам для комбинированных

компонентов активной фармацевтической субстанции или соматотерапевтического лекарственного препарата;

б) полные испытания выпускающего контроля, которые невозможно завершить до введения препарата реципиенту вследствие временных ограничений (например, в отношении аутологичных препаратов, вводимых сразу по завершении производства и первоначальных исследований). Вместе с тем, в этом случае необходимо определить и обосновать критический комплекс обязательных испытаний, которые необходимо выполнить в ограниченный период времени перед клиническим применением таких лекарственных препаратов. Во всех случаях необходимо сохранять архивные образцы для последующего анализа;

в) испытания на лекарственном препарате в случае если его фактически имеющееся в наличии количество ограничено клинически необходимой дозой (например, вследствие крайне ограниченного числа клеток при сборе или низкой скорости пролиферации). Выпуск соматотерапевтического лекарственного препарата в обращение в этом случае необходимо обосновать валидацией процесса манипуляции над клетками и внутрипроизводственными контролями.

4.5.2. Исследование стабильности

88. Срок хранения клеток в заявленных условиях хранения необходимо установить в отношении следующих материалов:

всех промежуточных продуктов, подлежащих хранению (если применимо);

компонентов комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата;

активной фармацевтической субстанции;

соматотерапевтического лекарственного препарата.

Кроме того, необходимо установить обоснованный срок хранения готового к применению соматотерапевтического лекарственного препарата (после вскрытия транспортного контейнера). Необходимо также определить все условия хранения, включая температурный диапазон. Условия транспортировки и хранения необходимо обосновать экспериментальными данными с точки зрения поддержания целостности клеток и стабильности лекарственного препарата в течение определенного срока годности (срока хранения). Если применимо, необходимо документировать соответствующие методы замораживания и размораживания.

89. В силу сложной природы активной фармацевтической субстанции соматотерапевтического лекарственного препарата требования к стабильности необходимо определять в индивидуальном порядке. Во всех возможных случаях стабильность необходимо оценивать в отношении как клеточного, так и неклеточного компонентов до их объединения и в совокупности в соматотерапевтическом лекарственном препарате в окончательной упаковке.

4.5.3. Специальные требования к качеству лекарственных препаратов на основе клеток, содержащих генетически модифицированные клетки

90. Если клетки подверглись генетической модификации, контроль качества необходимо осуществлять в соответствии с главой 32 настоящих Правил. Эти сведения являются дополнительными по отношению к контролю клеток в соответствии с указаниями, приводимыми в других научных медицинских источниках.

4.5.4. Специальные требования к качеству комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов

91. Необходимо установить спецификации на структурные компоненты комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов. Необходимо описать примеси и продукты деградации, происходящие из структурных компонентов (матрикса, каркаса, скаффолда, медицинского изделия) и для значимых примесей необходимо установить критерии приемлемости в спецификации. Испытания на структурные и механические свойства и биологическую активность с учетом ожидаемых условий применения лекарственного препарата и потенциала деградации могут быть затруднительны в рамках испытаний выпускающего контроля. Эти параметры необходимо изучать с помощью надлежащих испытаний сырья, материалов и установления характеристик соматотерапевтического лекарственного препарата. В крайне ограниченных условиях (например, в случае аутологичных препаратов с содержанием небольшого числа клеток) анализ структурных и функциональных характеристик комбинированного

соматотерапевтического лекарственного препарата может потребовать разработки модельного препарата, состоящего из тех же неклеточных компонентов, объединенных с клеточным компонентом (компонентами) с теми же характеристиками, но с доказанной доступностью.

4.6. Валидация процесса производства

92. Необходимо валидировать весь процесс производства, включая сбор клеток, процессы манипуляции над клетками, максимальное количество пассажей клеток, объединение с другими компонентами препарата, фасовку (наполнение), упаковку, транспортировку, хранение и др. В целях обеспечения постоянства производства валидация процесса производства комбинированного препарата должна охватывать все стадии, начиная с отдельных компонентов и до окончательной комбинации.

93. Необходимо подтвердить, что каждая стадия процесса производства активной фармацевтической субстанции, вспомогательных компонентов и соматотерапевтического лекарственного препарата хорошо контролируется. Необходимо обосновать выбор и критерии приемлемости рабочих параметров и внутрипроизводственного контроля. При валидации необходимо учитывать предполагаемую вариабельность, обусловленную исходными материалами, исходным сырьем и биологическими процессами. Более того, необходимо определить и валидировать критические стадии процесса производства, особенно асептические процессы.

94. Необходимо валидировать все стадии консервирования, сроки хранения между операциями и (или) транспортировки активной фармацевтической субстанции, соматотерапевтического лекарственного

препарата, вспомогательных компонентов или промежуточных продуктов во время процесса производства.

95. В случае ограниченных объемов образцов (например, аутологичные препараты для однократного введения) следует проводить расширенную валидацию процесса производства, используя соматотерапевтические лекарственные препараты с сопоставимыми характеристиками, имеющимися в достаточных количествах для целей валидации. Следует проводить валидацию такого производственного процесса с учетом характеристик продукта для посторонних агентов, идентификации (подлинности), активности, жизнеспособности, чистоты и (или) примесей и других специфичных для продукта параметров.

5. Фармацевтическая разработка

96. Общие принципы фармацевтической разработки биотехнологических и биологических продуктов, установленные главой 13 настоящих Правил, допускается применять к разработке соматотерапевтических лекарственных препаратов. Потенциальная сложность состава и вариабельность препаратов, содержащих жизнеспособные клетки, приводит к необходимости введения специализированных фармацевтических и биофармацевтических требований в каждую программу разработки, начиная с отдельных клеточных компонентов и заканчивая соматотерапевтическим лекарственным препаратом.

5.1. Клеточные компоненты

97. В программу фармацевтической разработки необходимо включить выбор материалов, сырья и процессов, которые будут использоваться в производстве. Программу фармацевтической разработки необходимо рассмотреть с точки зрения биологической и терапевтической функции, поддержания и защиты клеточной популяции.

98. Целостность клеточного компонента критически важна для соматотерапевтического лекарственного препарата и должна оцениваться по способности клеток выживать и поддерживать генотип или фенотип, необходимый для предполагаемых функций. Вместе с тем обнаружение возможных изменений клеточной природы, способных повлиять на планируемую функцию, необходимо выполнять с помощью анализа поверхностных клеточных антигенов, анализа протеомики и функциональной геномики (например, микроанализ на профиль экспрессируемых генов, проточная цитометрия и др.). Жизнеспособность клеток можно легко оценить в культуре с применением широко используемых методов подсчета клеток. В отношении комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов, структурные компоненты которых являются составной частью активной фармацевтической субстанции, проведение подобных анализов бывает затруднительно. При необходимости следует искать альтернативные подходы (например комбинация других подходящих анализов (например, определение pH и соотношения O_2/CO_2)).

99. В рамках программы исследования стабильности необходимо оценивать способность клеток продолжать вырабатывать или

экспрессировать продукты. Подобные исследования стабильности необходимо проводить по времени столько, сколько требует установленный срок годности (срок хранения).

5.2. Неклеточные компоненты

100. Соматотерапевтический лекарственный препарат может содержать такие неклеточные компоненты, как биоматериалы, биоактивные молекулы, белки или вещества химического происхождения. Они могут выполнять структурную поддержку, создавать подходящую среду для роста, биологический сигналинг или другие функции. Они также могут использоваться в процессе *ex vivo*-манипуляций.

101. Матрицы, каркасы, скаффолды, медицинские изделия, биоматериалы или биомолекулы, не являющиеся составной частью активной фармацевтической субстанции, рассматриваются в качестве вспомогательных веществ соматотерапевтического лекарственного препарата. В отношении вспомогательных веществ, впервые используемых в комбинации с клетками и (или) тканями, применяются требования к новым вспомогательным веществам, установленные частью I приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы. Стандартные вспомогательные вещества также необходимо охарактеризовать в отношении их комбинации с клетками.

102. Сведения о выборе вспомогательных веществ, их свойствах, характеристиках, дизайне и испытаниях каркаса, скаффолда или матрикса необходимо включить в регистрационное досье соматотерапевтического лекарственного препарата в рамках его фармацевтической разработки.

103. Если соматотерапевтический лекарственный препарат содержит компоненты, предназначенные для модификации доставки или обеспечения локального удержания клеток после введения препарата, необходимо представить научное обоснование, подкрепленное соответствующими данными о разработке этих компонентов. Требуется оценка отдельных неклеточных компонентов, хотя элементы такой оценки допустимо включить в исследования, направленные на оценку лекарственного препарата как единого целого. Если безопасность неклеточного компонента была установлена в рамках регистрации медицинского изделия или другого лекарственного препарата, элементы такой оценки применяются к оценке его безопасности и пригодности при использовании в составе соматотерапевтического лекарственного препарата (если это обосновано).

104. Необходимо описать релевантность структурных и функциональных характеристик неклеточных компонентов комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата. Необходимо оценить взаимодействие клеточного компонента и любых дополнительных неклеточных компонентов с медицинским изделием, а также представить данные по разработке и характеристики комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата как единого целого.

105. Дифференцировка и функциональность клеток и тканей в значительной мере зависят от микроокружения и тем самым от выбора биоматериалов и клеточных сигнальных биомолекул (например, факторов роста). В связи с этим необходимо провести исследования для проверки критичных свойств и функциональной пригодности биоматериалов и

других неклеточных компонентов соматотерапевтического лекарственного препарата, например биосовместимости и механической прочности.

106. В частности, для подтверждения, что свойства биоматериала не препятствуют росту и правильной функции ткани или клеток, с которыми он контактирует, и способствует совокупному функционированию препарата, необходимо обеспечить следующее:

а) подтвердить отсутствие в биоматериале компонентов или вымываемых веществ, которые могут быть токсичными для роста и (или) планируемого функционирования клеток;

б) установить характеристики для свойств (например, топографии, поверхностной химии, дозировки), критичных для поддержки структуры, оптимизации жизнеспособности и клеточного роста или других функциональных характеристик;

в) подтвердить биосовместимость структурного материала с клетками или тканями, чтобы подтвердить, что во время производства и до применения система поддерживает желаемую дифференцировку, функциональность и генотип клеток;

г) установить кинетику высвобождения и (или) скорость деградации любых биоактивных молекул, чтобы проверить их пригодность для достижения планируемого эффекта.

107. Чтобы установить биосовместимость, необходимо определить характер биологических ответов, которые биоматериал должен вызывать в ткани хозяина или в клеточных компонентах, и представить доказательство, что на релевантной модели достигается желаемый тканевый ответ.

108. Стабильность неклеточных компонентов необходимо оценивать в присутствии и отсутствии клеточных компонентов, чтобы определить, подвергается ли неклеточный компонент деградации или физико-химическим изменениям (например, агрегации, окислению), способным оказывать влияние на качество препарата, клеточное поведение и жизнеспособность клеток. Необходимо оценить влияние клеточных компонентов или окружающих тканей на деградацию (скорость и продукты, если применимо) или стабильность структурного компонента, учитывая также влияние неклеточных компонентов на протяжении всего ожидаемого срока годности препарата. Общие принципы, применяемые к биологической оценке медицинских изделий, также могут быть применимы к оценке биоматериалов, предназначенных для использования в составе соматотерапевтического лекарственного препарата. Подобная оценка включает программу установления характеристик биоматериала, испытания и рассмотрение имеющихся данных с целью оценки потенциала возникновения нежелательной биологической реакции в результате воздействия биоматериала в соответствии с принципами межгосударственного стандарта ГОСТ ИСО 10993-13, а также иными частями межгосударственных стандартов серии ГОСТ ИСО 10993, содержащими методы, которые применяются для оценки характеристик материалов, биологической безопасности и деградации биоматериалов, используемых в соматотерапевтических лекарственных препаратах. В целях подтверждения аспектов биосовместимости специфичных для практического применения комбинированных соматотерапевтических лекарственных препаратов, выполняются дополнительные исследования (например, исследования адгезии, роста клеток).

5.3. Готовый лекарственный препарат

109. После разработки состава и способа производства соматотерапевтического лекарственного препарата («рецептуры») (а также разработки системы доставки комбинированного лекарственного препарата), параметры для определения роли компонентов и пригодности состава должны быть представлены в обосновании состава готового лекарственного препарата.

110. Ключевые параметры для испытания функциональности лекарственного препарата должны быть обоснованы в соответствии с данными разработки и конечными требованиями к качеству. Допускается при целесообразности включить *in vitro* и *in vivo* испытания состава и (или) системы доставки и (или) комбинированного соматотерапевтического лекарственного препарата в ходе разработки.

6. Прослеживаемость

111. Система полной прослеживаемости информации о доноре, о лекарственном препарате и исходных материалах для его производства до пациента имеет важнейшее значение для мониторинга безопасности и эффективности соматотерапевтического лекарственного препарата. Создание и поддержание этой системы должно осуществляться таким образом, чтобы обеспечить согласованность и совместимость с требованиями к прослеживаемости и фармаконадзору, в соответствии с Правилами практики фармаконадзора.

112. Необходимо создать двухуровневую систему, обеспечивающую прослеживаемость от донации и заготовки клеток до производителя и

пользователя (медицинского учреждения) и гарантирующую анонимность донора и реципиента. При заготовке тканей должна быть установлена прослеживаемая связь между донором и донацией. На производственной площадке должна быть установлена прослеживаемая связь между донацией и продуктом, а в медицинском учреждении должна быть установлена прослеживаемая связь между лекарственным препаратом и реципиентом. Система должна обеспечивать полную прослеживаемость от донора до реципиента посредством анонимных систем кодирования.

113. Производителям необходимо создавать свои системы кодирования рациональным образом, опираясь на систему кодирования учреждения, производящего заготовку тканей, и разрабатывая ее таким образом, чтобы облегчить прослеживаемость от донации до продукта и до пациента. Системы штрих-кодирования и многостраничные клейкие этикетки (стикеры) служат подходящими инструментами для целей обеспечения прослеживаемости применения лекарственных препаратов у пациентов.

7. Сопоставимость

114. При разработке соматотерапевтического лекарственного препарата следует предусмотреть возможные изменения процесса производства, способные повлиять на готовый продукт. Учитывая сложную и динамичную природу соматотерапевтического лекарственного препарата, важно полностью оценить и проследить все стадии разработки в регистрационном досье. Это особенно значимо, если начались клинические исследования. Необходимо сохранять данные о поведении и характеристиках экспериментальных прототипов образцов, поскольку они

могут послужить источником справочных сведений, значимых для оценки готового продукта. Во время опорных клинических исследований не допускается вносить изменения в процесс производства и готовый продукт.

115. Материалы, используемые в клинических исследованиях, должны быть подробно охарактеризованы, чтобы можно было доказать постоянство производства. Производителям необходимо учитывать критические параметры, определенные в результате установления характеристик лекарственного препарата, для создания аналитических инструментов, требующихся для проведения необходимых исследований сопоставимости на протяжении всей разработки. Исследования сопоставимости соматотерапевтического лекарственного препарата, произведенного после внесения изменений, необходимо проводить в отношении серий, использованных в клинических исследованиях (в соответствии с главами 9.1 и 9.2 настоящих Правил).

116. Если на аналитическом и (или) доклиническом уровнях установить сопоставимость невозможно, ее необходимо подтвердить с помощью данных клинических исследований.

8. Доклиническая разработка

117. Доклинические исследования должны учитывать природу соматотерапевтического лекарственного препарата и быть пропорциональны по объему ожидаемому риску, связанному с клиническим применением.

118. В доклинических исследованиях необходимо отразить вариабельность соматотерапевтического лекарственного препарата.

Стандартные подходы к объему исследований, описанные в разделе 4 части I приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы в отношении фармакологических и токсикологических испытаний лекарственных препаратов, не всегда могут быть применимы в отношении соматотерапевтического лекарственного препарата. Любое отклонение от этих требований следует обосновать. Если клетки соматотерапевтического лекарственного препарата подверглись генетической модификации, доклиническую разработку необходимо выполнять в соответствии с главой 32 настоящих Правил.

119. Целями доклинических исследований являются демонстрация подтверждения принципа действия соматотерапевтического лекарственного препарата, определение фармакологических и токсикологических эффектов, предсказывающих ответ человека, не только до начала клинических исследований, а также на протяжении его клинической разработки. Задачи таких исследований включают: получение сведений для выбора безопасных доз соматотерапевтического лекарственного препарата для клинических исследований, получение сведений для обоснования пути введения и схемы применения, получение сведений о продолжительности экспозиции и продолжительности последующего наблюдения в целях обнаружения нежелательных реакций, выяснение органов-мишеней токсичности и параметров мониторинга пациентов, получающих такие лекарственные препараты.

120. Доклинические исследования необходимо проводить на релевантных животных моделях. Если релевантные животные модели разработать невозможно, исследования на животных допускается заменить исследованиями *in vitro*. Программа доклинической разработки и

критерии, использованные для выбора конкретной животной модели, должны быть обоснованы. Уровень экспрессии биологически активных молекул, путь введения и испытываемые дозы соматотерапевтического лекарственного препарата должны отражать планируемое клиническое применения у людей.

121. При планировании исследований необходимо учитывать положения глав 5.3 и 5.4 настоящих Правил. Количество животных, их пол, частота и продолжительность наблюдения должны быть достаточными для обнаружения возможных нежелательных эффектов.

122. Необходимо подтвердить безопасность и пригодность всех структурных компонентов для их целевой функции, учитывая их физические, механические, химические и биологические свойства (см. раздел 4.2.6 «Фармацевтическая разработка»).

8.1. Фармакология

8.1.1. Первичная фармакодинамика

123. Доклинические исследования должны быть адекватными для демонстрации подтверждения принципа действия соматотерапевтического лекарственного препарата. В рамках клинических исследований на подходящих *in vitro*- или *in vivo*-моделях необходимо выявить основные эффекты, связанные с применением соматотерапевтического лекарственного препарата.

124. В целях правильного выяснения фармакодинамического действия соматотерапевтического лекарственного препарата в организме

необходимо использовать в достаточной мере обоснованные маркеры биологической активности.

125. Если применение соматотерапевтического лекарственного препарата осуществляется, например, с целью восстановление функции дефектных клеток или ткани (регенерация ткани), чтобы подтвердить восстановление нарушенных функций, необходимо выполнить функциональные тесты. Если применение необходимо, например, для проведения адоптивной иммунотерапии онкологических пациентов, биологический эффект необходимо обосновать данными, описывающими иммунологическое действие соматотерапевтического лекарственного препарата.

126. Выбранная животная модель может быть основана на использовании иммунокомпрометированных, нокаутных или трансгенных животных. Гомологичная модель изучения соматотерапевтического лекарственного препарата может иметь преимущества, поскольку *in vivo*-поведение введенных клеток или ткани в гетерологичных моделях может быть изменено вследствие видоспецифичных несоответствий. В исследовании дифференцировки стволовых клеток следует использовать гомологичные модели. Частью анализов первичной фармакодинамики могут быть исследования *in vitro*, направленные на изучение клеточной и тканевой морфологии, пролиферации, фенотипа, гетерогенности и степени дифференцировки.

127. По возможности исследования следует проводить для определения минимально или оптимально эффективного количества соматотерапевтического лекарственного препарата требуемого для достижения желаемого эффекта.

8.1.2. Вторичная фармакодинамика

128. Необходимо изучить потенциально нежелательные физиологические эффекты соматотерапевтического лекарственного препарата человека, включая их биоактивные продукты, на подходящих моделях животных. Клетки могут мигрировать из места введения, в том числе, после системного введения, могут заселить нецелевые органы и ткани. Кроме того, соматические клетки могут секретировать дополнительные биологические молекулы, помимо интересующего белка, которые могут иметь дополнительные органы-мишени.

8.1.3. Фармакологическая безопасность

129. При организации доклинических исследований безопасности следует учитывать положения актов органов Союза в сфере обращения лекарственных средств.

130. Фармакологическую безопасность следует рассматривать в индивидуальном порядке для каждого соматотерапевтического лекарственного препарата в зависимости от его характеристик. Клетки соматотерапевтического лекарственного препарата могут секретировать фармакологически активные вещества, приводя к дисфункциям со стороны центральной нервной системы, сердца, органов дыхания, почек или желудочно-кишечного тракта.

131. Необходимо учитывать, что теоретически сами клетки также могут вызывать подобные последствия (например, если речь идет о стволовых клетках или мышечных клетках, трансплантированных в области сердца, пораженные инфарктом).

8.1.4. Кинетика, миграция и персистенция

132. Стандартные исследования абсорбции, распределения, метаболизма и выведения, как правило, не применимы для соматотерапевтического лекарственного препарата человека. Вместе с тем необходимо провести исследования для демонстрации распределения в тканях, жизнеспособности клеток, миграции, роста и возможного изменения фенотипа клеток, обусловленного воздействием нового тканевого окружения.

133. Клетки могут мигрировать, тем самым вызывая опасения в отношении нежелательных реакций вследствие эктопического приживания клеток, обладающих потенциалом к дифференцировке. Вероятность реализации данной возможности следует оценивать на животных, используя соответствующие методы специфичной идентификации клеток.

134. В отношении изучения биораспределения клеточного материала соматотерапевтического лекарственного препарата использование мелких животных позволяет добиться более точного обнаружения клеток, чем у крупных животных.

135. В отношении соматотерапевтических лекарственных препаратов, вырабатывающих биологически активные биомолекулы, необходимо изучить распределение, продолжительность и уровень экспрессии таких биомолекул, а также жизнеспособность и функциональную стабильность клеток в тканях целевых органов.

8.1.5. Взаимодействие клеток

136. Необходимо отслеживать взаимодействие введенных клеток и окружающей ткани с неклеточными структурными компонентами и биоактивными молекулами, а также интеграцию соматотерапевтического лекарственного препарата в окружающие ткани.

8.2. Токсикология

137. Необходимость токсикологических исследований зависит от вида лекарственного препарата. Вместе с тем, поскольку стандартные дизайны исследования могут оказаться неподходящими, необходимо представить научное обоснование использованных моделей или отказа от проведения исследований.

138. Токсичность лекарственного препарата может возникать вследствие непредвиденных изменений свойств клеток, возникших во время производственного процесса (например таких, как измененные профили секреции и изменение поведения *in vivo* клеточного материала вследствие дифференцировки клеток). Другие потенциальные факторы, способные индуцировать токсичность, включают аллогенное применение соматотерапевтического лекарственного препарата, наличие компонентов, используемых в производственном процессе, или являющихся частью неклеточного компонента лекарственного препарата, либо сверхпролиферацию введенных клеток в нежелательных количествах или в нежелательных местах локализации.

139. Стандартные токсикологические исследования все же могут потребоваться, например для комбинированных соматотерапевтических

лекарственных препаратов, содержащих в своем составе другие лекарственные препараты, или вещества (например, адъюванты либо цитокины или радиоактивные вещества). Необходимость проведения исследований межлекарственных взаимодействий зависит от целевого назначения и разновидности соматотерапевтического лекарственного препарата и требует обоснования.

140. Индукция иммунного ответа на сами клетки и (или) вырабатываемые клетками фармакологически активные вещества может модулировать эффективность соматотерапевтического лекарственного препарата. В связи с этим необходимо учитывать возможную иммуногенность соматотерапевтического лекарственного препарата. Указания по оценке иммуногенности экскретируемых веществ приведены в главах 5.3 и 5.4 настоящих Правил.

141. Если клетки применяются в целях иммунотерапии (например, лекарственные препараты для иммунотерапии рака), следует учитывать аутоиммунитет.

8.2.1. Исследования токсичности при однократном и повторном (многократном) введении

142. Токсикологические исследования необходимо проводить на релевантных животных моделях. Если человеческие клетки не подвергаются немедленному отторжению, токсикологические исследования допускается объединить с исследованиями фармакологической безопасности, местной переносимости или проверки концепции и эффективности. В случае некоторых аллогенных соматотерапевтических лекарственных препаратах допускается

использовать охарактеризованные аналогичные животные клетки, если они не отторгаются организмом реципиента.

143. Продолжительность наблюдений в подобных исследованиях может быть больше, чем в стандартных исследованиях при однократном введении, поскольку клетки предназначены для длительного функционирования или индукции долгосрочных эффектов, что следует отразить в дизайне таких исследований. Путь и режим дозирования должны отражать планируемое клиническое применение препарата. Исследования токсичности при повторном (многократном) введении значимы, в случае если клиническое применение соматотерапевтического лекарственного препарата предусматривает повторное (многократное) введение.

8.2.2. Исследования местной переносимости

144. Следует проанализировать необходимость проведения исследования местной переносимости на соответствующих видах животных. Местную переносимость, тканевую совместимость и переносимость экскретируемых веществ необходимо оценить в исследованиях токсичности при однократном и повторном (многократном) введении.

8.2.3. Исследования других видов токсичности

145. Необходимо в индивидуальном порядке рассмотреть риск индукции образования опухолей вследствие неопластической трансформации клеток соматотерапевтического лекарственного препарата

или клеток-реципиента. Стандартные исследования канцерогенности в отдельных случаях невозможно выполнить. Исследования туморогенности предпочтительно проводить с клетками, находящимися на пределе их культивирования или даже сверх него. Во время исследований туморогенности и онкогенности особо тщательно необходимо изучить ткани, в которых по результатам исследований биораспределения обнаружались введенные клетки или продукты экспрессии, соответственно.

146. Проводить исследования генотоксичности соматотерапевтического лекарственного препарата человека не требуется, если только природа какого-либо продукта экспрессии не свидетельствует о прямом воздействии на геном клеток реципиента.

147. Необходимость проведения исследований репродуктивной и онтогенетической токсичности зависит от характеристики соматотерапевтического лекарственного препарата и должна определяться в индивидуальном порядке.

9. Клиническая разработка

9.1. Общие аспекты

148. В целом, когда соматотерапевтический лекарственный препарат входит в фазу клинической разработки, к нему предъявляются те же требования, что и к другим лекарственным препаратам. В соответствии с Правилами регистрации и экспертизы, а также научными руководствами по изучению соответствующих нозологий план клинической разработки должен включать фармакодинамические исследования,

фармакокинетические исследования, исследования механизма действия, исследования по поиску доз и рандомизированные клинические исследования.

149. Ввиду специфических биологических характеристик соматотерапевтических лекарственных препаратов для клинической разработки допускается применение альтернативных подходов к фазам I – III клинических исследований, если обосновано. Для демонстрации «подтверждения концепции» (исследование механизма действия) и выбора клинически значимых конечных точек для оценки безопасности и эффективности используются результаты доклинических исследований, предыдущий клинический опыт лечения патологии и данные первоначальных клинических исследований. При неопределенности в отношении логики разработки соматотерапевтических лекарственных препаратов необходимо обратиться за научной консультацией.

150. Для достижения планируемого терапевтического эффекта соматотерапевтические лекарственные препараты могут требовать введения с помощью специальных хирургических процедур, особого метода введения или наличия сопутствующей терапии. Биологические эффекты соматотерапевтических лекарственных препаратов зависят от *in vivo*-окружения и могут изменяться под воздействием процесса замещения или иммунной реакции со стороны пациента или лекарственного препарата. Данные условия, связанные с клинической разработкой, необходимо принимать во внимание при конечном использовании подобных лекарственных препаратов. Их стандартизация и оптимизация должны быть неотъемлемой частью исследований клинической разработки. Терапевтическая процедура как единое целое,

включая способ введения и требуемые сопутствующие лекарственные препараты, (например, режимы иммуносупрессии), подлежит изучению и описанию в информации о препарате (общей характеристике лекарственного препарата).

9.2. Фармакодинамика

151. В случае даже если нет детального понимания механизма действия, основные эффекты соматотерапевтических лекарственных препаратов должны быть изучены и установлены. Если соматотерапевтический лекарственный препарат предназначен для коррекции функции дефектных или разрушенных клеток или ткани, необходимо использовать функциональные тесты. Если целевое применение соматотерапевтического лекарственного препарата заключается в восстановлении или замене клеток (тканей) с ожидаемой пожизненной функциональностью, потенциальными фармакодинамическими маркерами могут быть структурные или гистологические анализы. Допускается использовать подходящие фармакодинамические маркеры (например определяемые с помощью микроскопических, гистологических, визуализационных методов или ферментативной активности).

152. Если соматотерапевтический лекарственный препарат включает неклоточный компонент, комбинацию необходимо изучить в клинических исследованиях на совместимость, скорость деградации и функциональность.

9.3. Фармакокинетика

153. Стандартные исследования абсорбции, распределения, метаболизма и выведения, как правило, не подходят для соматотерапевтического лекарственного препарата. Необходимо проанализировать требования к исследованиям, возможные методологии и их выполнимость, уделить внимание мониторингу жизнеспособности, пролиферации, дифференцировки, распределению в организме и миграции, а также функционированию в течение планируемой жизнеспособности препаратов.

154. Если предусмотрено повторное (многократное) введение соматотерапевтического лекарственного препарата, необходимо проанализировать режим дозирования соматотерапевтического лекарственного препарата в соответствии с его ожидаемой продолжительностью жизни в организме пациента *in vivo*.

9.4. Исследования подбора дозы лекарственных препаратов

155. Подбор дозы необходимо обосновать с учетом результатов разработки показателей качества и доклинических исследований, при этом доза должна быть связана с активностью соматотерапевтического лекарственного препарата. Даже несмотря на то, что доза соматотерапевтического лекарственного препарата может определяться индивидуальными характеристиками пациентов (например, плотностью клеточной массы на массу тела или на объем пораженной ткани), дозу для подтверждающего исследования необходимо обосновать на основе данных, полученных в клинических исследованиях фаз I и II.

156. Клинические исследования фаз I и II необходимо планировать таким образом, чтобы выяснить минимально эффективную дозу, определяемую как наименьшая доза, требуемая для достижения планируемого действия, или диапазон оптимально эффективных доз, определяемый как наибольший диапазон доз, требуемый для достижения планируемого действия на основании клинических результатов эффективности и переносимости. Необходимо также изучить максимальную безопасную дозу, определяемую как максимальная доза, которую можно ввести на основании исследований клинической безопасности без возникновения серьезных нежелательных явлений.

9.5. Клиническая эффективность

157. Клинические исследования эффективности должны быть подходящими для подтверждения эффективности у целевой популяции пациентов с использованием клинически значимых конечных точек; для подтверждения соответствующего режима дозирования, позволяющего достичь оптимального терапевтического эффекта; для оценки продолжительности терапевтического эффекта применяемого соматотерапевтического лекарственного препарата и для обеспечения возможности оценки соотношения «польза – риск», принимая во внимание существующие альтернативные методы лечения для целевой популяции. Подтверждающие исследования должны соответствовать научным руководствами по изучению соответствующих нозологий.

158. Отклонения от требований, указанных в пункте 157 требуют представления обоснования в регистрационном досье. Например, тот факт, что природа и механизм действия соматотерапевтического лекарственного

препарата являются принципиально новыми, необязательно означает, что терапевтическая польза должна измеряться с помощью конечных точек, отличных от рекомендуемых, специфичных для конкретной нозологии (например, при сравнении лекарственных препаратов для лечения болезни Паркинсона с клеточными имплантатами).

159. В случае новых показаний для применения соматотерапевтического лекарственного препарата, в области применения которого есть только ограниченный круг нозологий, необходимо провести консультацию с уполномоченными органами по вопросу плана клинической разработки, включая подтверждающие клинические исследования.

160. Использование ранее валидированных или общепринятых суррогатных конечных точек возможно при условии, что может быть установлена корреляция между клинически значимыми конечными точками и эффективностью. Иногда целевую конечную точку (например, предотвращение артроза), можно зарегистрировать только после длительного последующего наблюдения. В подобных случаях выводы об эффективности соматотерапевтического лекарственного препарата в регистрационном досье допускается основывать на суррогатных маркерах. Если эффективность зависит от долгосрочной персистенции препарата, необходимо представить план долгосрочного наблюдения за пациентами. Таким образом, допускается использовать новые значимые конечные точки, клинические или иные (суррогатные) при наличии соответствующего обоснования.

9.6. Клиническая безопасность

161. Данные по безопасности должны позволять обнаруживать распространенные нежелательные явления. Объем данных включает в себя результаты предыдущего клинического опыта применения родственных препаратов.

162. Необходимо оценить риск терапевтической процедуры в целом, например хирургических процедур, требуемых для введения соматотерапевтического лекарственного препарата, или иммуносупрессивной терапии, и использовать результаты оценки для обоснования проведения клинических исследований и выбора целевой популяции пациентов.

163. Необходимо рассмотреть все вопросы безопасности, возникшие в доклинических исследованиях, особенно при отсутствии животной модели для данного заболевания или при наличии физиологических различий, ограничивающих предсказательную ценность гомологичной модели.

164. Во время разработки и пострегистрационной фазы клинических исследований соматотерапевтических лекарственных препаратов особое внимание необходимо уделить биологическим процессам, включая иммунный ответ, инфекции, злокачественную трансформацию и сопутствующую терапию.

165. В отношении лекарственных препаратов с ожидаемой долгосрочной жизнеспособностью необходимо последующее наблюдение за пациентом для того, чтобы подтвердить долгосрочную эффективность и безопасность препарата.

166. Клинические исследования безопасности при введениях соматотерапевтических лекарственных препаратов необходимо проводить в соответствии с результатами анализа риска. Определение «максимальной безопасной дозы» должно также учитывать возможность повторного (многократного) введения соматотерапевтического лекарственного препарата.

10. Фармаконадзор и план управления рисками

167. В плане управления рисками необходимо описать текущий фармаконадзор и прослеживаемость соматотерапевтического лекарственного препарата в соответствии с Правилами практики фармаконадзора. Для соматотерапевтических лекарственных препаратов может потребоваться проведение специальных долгосрочных исследований по мониторингу специфических вопросов безопасности, включая потерю эффективности.

168. В план управления рисками необходимо включить такие вопросы долгосрочной безопасности, как риск передачи инфекционных агентов, иммуногенность или иммуносупрессия и злокачественная трансформация, а также стабильность *in vivo* входящего в состав соматотерапевтического лекарственного препарата медицинского изделия или биоматериала. В ряде случаев следует предусмотреть проведение специальных фармакоэпидемиологических исследований. Специальные требования в плане управления рисками связаны с биологическими характеристиками соматотерапевтического лекарственного препарата. Прослеживаемость в направлении «донор – препарат – реципиент» или

«препарат – реципиент» в отношении аутологичных препаратов требуется включать в план управления рисками во всех случаях.

Глава 32. Качество, доклинические и клинические аспекты разработки и изучения лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки

1. Общие положения

1. Генетически модифицированные клетки разрабатываются с использованием целевой генетической последовательности либо с целью терапевтического действия (генотерапевтические лекарственные препараты), либо в производственных целях при разработке продукта клеточной терапии или тканевой инженерии (например, для создания индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК, induced pluripotent stem cells, iPS), которые позднее дифференцируются в соматотерапевтические лекарственные препараты или препараты тканевой инженерии). В отношении генетической модификации клеток к более традиционным подходам переноса генов были добавлены такие новые техники редактирования генома, как CRISPR-Cas, цинковые пальцевые нуклеазы (ZFN) или TALEN.

2. К генетически модифицированным клеткам относят следующие группы лекарственных препаратов (но не ограничиваются ими):

а) генетически модифицированные клетки для лечения моногенного наследственного заболевания;

б) генетически модифицированные дендритные клетки или цитотоксические лимфоциты для иммунотерапии рака;

в) генетически модифицированные аутологичные хондроциты для репарации хряща;

г) генетически модифицированные клетки-предшественники для лечения сердечно-сосудистых заболеваний или диагностических исследований с помощью меченных *in vivo* генетически модифицированных клеток, особенно для анализов распределения или дифференцировки *in vivo*;

д) генетически модифицированные остеогенные клетки для репарации костной ткани;

е) генетически модифицированные клетки, содержащие генетическую конструкцию, которая может быть активирована для элиминации клеток в определенных условиях для поддержания безопасного применения продукта.

3. Настоящая глава содержит указания для заявителей, разрабатывающих лекарственные препараты, содержащие генетически модифицированные клетки. Ввиду интенсивного развития генетической инженерии положения данной главы следует применять к любому новому продукту в части тех положений, которые не противоречат свойствам и природе изучаемого продукта.

Настоящая глава содержит указания по разработке и оценке лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки, предназначенные для использования у человека и представляемые на регистрацию, а также требования к качеству, доклиническим аспектам, безопасности и эффективности генетически модифицированных клеток.

В разделе по качеству настоящей главы приведены требования, специфичные исключительно для генетической модификации целевой

клеточной популяции и для лекарственного препарата на основе генетически модифицированных клеток, образующегося в результате процесса производства. Также в разделе по качеству приведены требования к исходным материалам (также требования к реагентам, исходному сырью и инструментам редактирования генома), обеспечению сопоставимости при изменениях производственного процесса и его валидации.

В разделе по доклиническим исследованиям содержатся требования к проведению доклинических исследований необходимых для оценки доказательства концепции и биораспределения лекарственного препарата, для выявления потенциальных органов-мишеней токсичности, получения сведений о выборе дозы для клинических исследований и обоснования пути введения и схемы дозирования. Раздел по доклиническим исследованиям содержит текущие представления о требованиях к проведению доклинических исследований и специальный раздел по изучению генетически модифицированных клеток на основе химерных антигенных рецепторов (Chimeric Antigen Receptor, CAR) и Т-клеточных рецепторов (T-cell receptor, TCR), на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и генетически модифицированных клеток получаемых в результате редактирования генома.

В разделе по клиническим исследованиям содержатся требования по исследованию фармакологических свойств самой клетки и трансгена. Требования к исследованиям эффективности основаны на тех же принципах, что клиническая разработка любого другого лекарственного препарата с учетом конкретной терапевтической области его применения.

Также в настоящей главе приведены требования к проведению оценки безопасности препарата, последующего наблюдения за пациентами и фармаконадзору.

4. Проведение генетических модификаций клеток возможно при помощи различных методов (например, при использовании вирусных и невирусных векторов, мРНК, инструментов редактирования генома). Генетически модифицированные клетки могут иметь человеческое происхождение (аутологичное или аллогенное) или животное происхождение (ксеногенные клетки), быть первичными или сформированными клеточными линиями. В лекарственных препаратах генетически модифицированные клетки могут быть представлены самостоятельно или в комбинации с медицинскими изделиями.

5. Для генетической модификации клеток *ex vivo* выполняются следующие стадии:

а) клетки выделяются от подходящего донора (человек или животное) или берутся из банка первичных клеток или тканей;

б) клетки подготавливаются для переноса генов или генной модификации;

в) при помощи определенной техники и посредством подходящего вектора целевой ген модифицируется или внедряется в клетки;

г) генетически модифицированные клетки далее обрабатываются (например, фасуются) и хранятся в соответствующих условиях в виде свежеприготовленного или криоконсервированного продукта.

6. Потенциальный риск вреда, связанный с введением генетически модифицированных клеток, зависит от происхождения клеток, типа вектора и (или) метода, используемого для генетической модификации,

производственного процесса, неклеточных компонентов и конкретного терапевтического назначения. Для оценки риска допускается применять риск-ориентированный подход к разработке препарата. Общие указания по разработке данной группы лекарственных препаратов с учетом риска приведены в части IV приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы. Многообразие лекарственных препаратов может приводить к очень разным уровням рисков. Такое многообразие означает, что планы разработки и требования к оценке необходимо корректировать в индивидуальном порядке в соответствии с многофакторным риск-ориентированным подходом.

2. Сфера применения

7. Положения настоящей главы применяются к лекарственным препаратам, содержащим генетически модифицированные клетки в качестве активного вещества и предназначенным для использования людьми, независимо от того, выполнялась ли генетическая модификация в терапевтических или иных (например, создание индуцированных плюрипотентных стволовых клеток) целях.

Генетически модифицированные клетки микробного происхождения не входят в сферу применения настоящей главы. Нежизнеспособные или облученные генетически модифицированные клетки входят в сферу применения настоящей главы при условии того, что механизм действия опосредован фармакологическими, метаболическими или иммунологическими путями.

8. Требования, описанные в настоящей главе, относятся к документам и сведениям, представляемым в составе регистрационного

досье на этапе регистрации лекарственного препарата, помимо этого данные требования следует применять производителям и на стадии разработки лекарственного препарата.

9. Настоящую главу необходимо рассматривать вместе с частью IV приложения № 1 к Правилам регистрации и экспертизы, главой 31 настоящих Правил, требованиями к качеству, доклиническим и клиническим аспектам разработки бесклеточных генотерапевтических лекарственных препаратов, утверждаемыми Комиссией, а также иными актами органов Союза в сфере обращения лекарственных средств.

10. Донация, заготовка и испытания клеток человеческого происхождения должны отвечать требованиям к донациям, указанным в главах 19 – 20 настоящих Правил. Если компоненты из крови человека используются в качестве исходного материала, сбор, испытания, обработка, хранение и реализация крови и клеток крови человека должны соответствовать требованиям установленным законодательством государств-членов к донорству органов и тканей, а также крови и ее компонентов.

3. Определения

11. Для целей настоящей главы используются понятия, которые означают следующее:

«гомологичная животная модель» – животная модель, в которой используются клетки животных для имитации лекарственного препарата на основе клеток человека;

«индуцированная плюрипотентная стволовая клетка (ИПСК)» – разновидность плюрипотентной стволовой клетки, искусственно получаемой из зрелой дифференцированной соматической клетки;

«множественность инфекции (Multiplicity of Infection, MoI)» – отношение числа вирусных частиц к числу клеток-мишеней;

«персистенция» – долгосрочное обнаружение генетически модифицированных клеток или продукта экспрессии трансгена после введения;

«редактирование генома» – технология внедрения сайт-специфичных изменений в генетический материал с использованием таких генно-инженерных инструментов на основе нуклеаз, как цинковые пальцевые нуклеазы (ZFN), эффекторные нуклеазы, подобные активатору транскрипции (TALEN), инженерные мегануклеазы и короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированным белком;

«риск-ориентированный подход» – стратегия для определения объема данных о качестве, доклинических и клинических данных, включаемых в регистрационное досье;

«Т-клетки с модифицированным TCR» – Т-клетки с генетически модифицированными Т-клеточными рецепторами (TCR), выборочно направленные на антигены, ассоциированные с опухолями;

«Т-клетки с химерным антигенным рецептором (CAR-T)» – аутологичные или аллогенные Т-клетки, которые генетически модифицируются для экспрессии искусственного Т-клеточного рецептора – химерного антигенного рецептора (CAR) и которые будут связываться со

специфичным антигеном (например, с CD19 на опухолевых клетках) и активировать Т-клетки;

«эпигенетические изменения» – изменения в экспрессии гена, вызываемые механизмами, отличными от изменений в нуклеотидной последовательности ДНК.

4. Требования к производству лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки

4.1. Материалы

4.1.1. Исходные материалы

12. Генетически модифицированные клетки получают посредством *ex vivo* переноса генов или *ex vivo* редактирования генома. В отношении обеих процедур используются разные типы исходных материалов. Они включают человеческие или животные клетки и инструменты (например, векторы, мРНК), используемые для их генетической модификации. Последние могут различаться и будут зависеть от используемой процедуры генетической манипуляции.

13. Для переноса генов *ex vivo* инструментами, используемыми для генетической модификации клеток, должны быть подготовлены, соответственно, вектор (например, вирусный или невирусный) и компоненты для их получения. Правила надлежащей производственной практики должны применяться, начиная с системы банков клеток, используемых для производства вектора, и далее.

14. При редактировании генома, для генетической модификации клеток могут в соответствующих случаях использоваться такие инструменты, как:

векторы (например, вирусные или невирусные), несущие последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие модифицирующий фермент;

мРНК, экспрессирующие модифицирующий фермент;

сам модифицирующий фермент;

генетическая последовательность для модификации клеточного генома (например, направляющая гидовая РНК(gRNA)) или рибонуклеопротеин (например, белок Cas9 в заранее образованном комплексе с гидовой РНК);

матрица для репарации (например, фрагмент линейной ДНК или плазмиды) и компоненты для их получения.

15. Если используются векторы, мРНК или белки, принципы GMP должны применяться, начиная с системы банков, используемых для получения (производства) указанных материалов, и далее.

16. В отношении лекарственных препаратов на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, создаваемых при помощи генетической модификации, принципы GMP и положения настоящей главы, должны применяться после заготовки клеток, включая создание индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и последующий процесс отбора. На ранних стадиях создания индуцированных плюрипотентных стволовых клеток клеточный материал может быть ограничен, и доступность образцов влияет на масштаб испытаний и квалификацию процесса. Необходимо соблюдать требования

Правил производственной практики в отношении высокотехнологичных лекарственных препаратов в этих случаях.

В случае производства активных веществ, состоящих из генетически модифицированных клеток, получаемых от генетически модифицированных животных, принципы GMP должны применяться после их заготовки и испытаний в соответствии с требованиями, предъявляемыми к ксеногенным клеткам. Если используются клетки или ткани человеческого происхождения, необходимо следовать указаниям, приведенным в требованиях к качеству, доклиническим и клиническим аспектам разработки бесклеточных генотерапевтических лекарственных препаратов (утверждаемых Комиссией).

17. Для комбинированного высокотехнологичного лекарственного препарата, содержащего генетически модифицированные клетки и дополнительные вещества (например, каркасы, матриксы, скаффолды, медицинские изделия, биоматериалы, биомолекулы и (или) другие компоненты), которые комбинируются с клетками, подвергшимися манипуляции, неотъемлемую часть которых они образуют, такие дополнительные вещества должны считаться исходными материалами, даже если не имеют биологического происхождения. Они должны квалифицироваться в отношении их целевого назначения в соответствии с положениями главы 31 настоящих Правил.

18. Исходные материалы и исходное сырье, используемые для производства генетически модифицированных клеток и продуктов с отредактированным геномом, должны подвергаться тщательной квалификации, чтобы гарантировать стабильный процесс производства. Объем данных, предоставляемых в отношении каждого исходного

материала, аналогичен объему данных, который требуется соответственно в отношении активной фармацевтической субстанции соматотерапевтического лекарственного препарата и активного вещества генотерапевтического лекарственного препарата. При использовании заранее сформированного комплекса рибонуклеопротеина, который может использоваться во время некоторых процедур редактирования генома, объем данных, предоставляемый в отношении каждого исходного материала (например, рекомбинантного белка и гидовой РНК), тоже точно такой же, какой требуется для активной фармацевтической субстанции биологического лекарственного препарата и химического лекарственного препарата. Необходимо представить подробные сведения о производственном процессе, контроле материалов и сырья, установлению характеристик производственного процесса, разработке производственного процесса, контроле критичных стадий производственного процесса, валидации производственного процесса, аналитических методиках и стабильности. Сведения об исходных материалах необходимо включить в состав регистрационного досье в раздел «Контроль материалов» как при их самостоятельном производстве, так и при поставке другим производителем. Вместе с тем в отношении вектора и клеток могут быть предусмотрены отдельные модули в подразделе 3.2.S. регистрационного досье лекарственного препарата.

19. Независимо от использования процедур *ex vivo* переноса генов или технологий редактирования генома, выбор вида доставляющего вектора или носителя, используемого для генетической модификации *ex vivo*, необходимо обосновать, исходя из характеристик клеток-мишеней, ожидаемой модификации генома, клинического показания и др.

Молекулярный дизайн вектора должен быть обоснован критериями безопасности и эффективности. При использовании интегрирующихся векторов следует выбрать соответствующий их дизайн, чтобы снизить риски возникновения инсерционного мутагенеза и повысить безопасность вектора (например, самоинактивирующиеся векторы (self-inactivating, SIN)). Аналогично, если нуклеазы, редактирующие геном, такие как CRISPR/Cas9, экспрессируются в клетках-мишенях, требуются стратегии для увеличения целевых и уменьшения нецелевых эффектов, которые должны быть обоснованы. Это включает транзистную (временную) экспрессию нуклеазы и соответствующую конструкцию кодируемых ДНК-связывающих доменов модифицирующего фермента и малой гидовой РНК для повышения селективности модифицирующего фермента.

20. Для производства лентивирусных (ЛВ), ретровирусных (РВ), аденоассоциированных (ААВ) или других вирусных векторов, которые будут использоваться для генетической модификации клеток, с использованием транзистной трансфекции клеточных линий-продуцентов, последовательность плазмид, используемых для обеспечения векторной функции (функций), должна быть верифицирована перед их использованием в производстве. В случае производства рекомбинантной мРНК или белков используемые для производства кодирующие последовательности плазмид должны быть проверены перед их применением в процессе производства с помощью транзистной трансфекции.

21. Необходимо избегать использования несвязанных ДНК-последовательностей (таких как маркеры селекции), которые могут

попасть в препарат генетически модифицированных клеток, если не обосновано иное.

22. Перед использованием вектор должен быть стерильным. Необходимо подтвердить отсутствие в нем любой нежелательной вирусной контаминации, включая вирусы-помощники или гибридные вирусы, такие как в системах производства аденоассоциированных вирусных векторов, контаминации посторонними агентами или репликативно-компетентными векторами для репликативно-дефектных векторов. В последнем случае необходимо использовать валидированный чувствительный анализ (или комбинацию анализов), такой как количественный ПЦР-анализ, дополненный анализом инфекционности на чувствительных клетках. Необходимо избегать использования неочищенных векторов в процессе трансдукции.

23. Если применимо, необходимо создать должным образом контролируемую систему хранения исходных материалов, чтобы их можно было хранить, извлекать и поставлять без какого-либо нарушения целевых характеристик.

24. Исходный материал необходимо хранить в контролируемых и оптимальных условиях, чтобы обеспечить поддержание критичных характеристик для целевого назначения и, в частности, чтобы обеспечить приемлемый уровень постоянства качества продукта, которого необходимо придерживаться в пределах параметров серий, испытанных клинически.

4.1.2. Другие материалы, реагенты и вспомогательные вещества

25. Материалы и реагенты, используемые для культивирования клеток, процессов трансдукции или трансфекции и последующих стадий, должны иметь качество в соответствии с Фармакопеей Союза, а при отсутствии в ней – в соответствии с фармакопеями государств-членов.

26. Необходимо обеспечивать вирусную безопасность, а также принимать меры для минимизации риска контаминации агентами губчатой энцефалопатии, любого реагента или материала животного происхождения. Такие рекомбинантные белки, как ферменты, антитела, цитокины, факторы роста или адгезии, необходимо охарактеризовать и контролировать там, где оправданно и релевантно, в соответствии с требованиями Фармакопеи Союза, а при отсутствии в ней – в соответствии с фармакопеями государств-членов. Если в производстве лекарственного препарата, содержащего генетически модифицированные клетки, используются структурные компоненты (матрикс, каркасы, скаффолды, медицинские изделия), необходимо применять положения главы 31 настоящих Правил.

4.2. Производственный процесс

27. Производственный процесс предусматривает отдельные стадии для производства соматотерапевтических и генотерапевтических лекарственных препаратов. Требования к каждой из стадий должны отвечать требованиям, установленным в актах органов Союза в сфере обращения лекарственных средств в части планирования и контроля производственного процесса.

28. Процедуры для любой манипуляции необходимо подробно документировать и тщательно отслеживать в соответствии с установленными контролями процесса (включая параметры процесса и рабочие диапазоны, внутрипроизводственные контроли или испытания и показатели качества материалов).

29. Риски при производстве могут различаться в зависимости от вида продукта, природы и характеристик исходных материалов и уровня сложности производственного процесса. Риск-ориентированный подход необходимо применять к планированию производственного процесса, чтобы оценить критичность показателей качества и параметров производственного процесса и гарантировать рутинное получение серий лекарственного препарата с планируемым качеством.

30. Нежелательная вариабельность, например, связанная с условиями культивирования, стадиями активации, средой и условиями трансдукции (трансфекции) или концентрацией вектора, эффективностью трансдукции или множественностью инфекции (MOI) во время производства, может приводить к количественным и (или) качественным различиям в качестве продукта или содержащихся примесях.

31. Испытания на способных к репликации вирусах (RCV), в качестве внутрипроизводственного контроля не считается нужным при условии, что отсутствие способного к репликации вируса было показано (с использованием валидированного и чувствительного анализа) на уровне исходного материала вирусного вектора и есть возможность исключить образование способного к репликации вируса во время производства генетически модифицированные клеток. В этом случае необходимо

представить оценку риска, чтобы оценить потенциал возникновения способных к репликации вирусов во время производства.

32. Необходимо предоставить четкое определение производственной серии (от получения клеток и вектора), используемое для маркировки окончательной упаковки (например, размер, количество пассажей клеток или удвоений клеток, стратегии объединения пулов, систему присвоения номеров серий).

33. Во всех выполнимых случаях необходимо хранить архивные образцы для будущего анализа.

4.2.1. Приготовление и культивирование клеток

34. Необходимо соблюдать принципы, приведенные в главе 31 настоящих Правил, в отношении стадий приготовления и культивирования клеток в рамках процесса производства и контроля.

35. В зависимости от специфичных для исходного материала характеристик могут требоваться дополнительные испытания по приемке клеток для использования в производстве лекарственного препарата. Специфичный вирусологический скрининг и любые другие дополнительные испытания, проводимые на исходном материале, должны быть соразмерны рискам, которые несут отдельные клетки и вектор (или другие материалы), используемые для генетической модификации клеток. Должна быть разработана и описана соответствующая программа испытаний по приемке клеток.

36. Допускается использование дополнительных производственных стадий подготовки исходного материала (например, диссоциация органа или ткани; обогащение, изоляция или селекция интересующей популяции

клеток; активация или стимуляция клеток), в отношении которых необходимо представить детальное описание. Кроме того, необходимо предоставить подробные сведения о всех параметрах процесса производства и внутрипроизводственном контроле и соответствующем численном рабочем диапазоне или установочной точке и критериях приемлемости (либо пределах действий), чтобы осуществлять контроль критичных параметров для обеспечения требуемых критических показателей качества лекарственного препарата.

37. Особое внимание необходимо уделить характеристикам клеток, которые потенциально влияют на последующие стадии переноса генов.

4.2.2. Генетическая модификация

38. Генетическая модификация клеток – это производственная стадия, на которую влияет множество входных параметров, поэтому контроль ее критичен. Результативность генетической модификации может зависеть от разных факторов, таких как особенности целевых клеток (первичные клетки или клеточные линии, адгезивные или суспензионные, делящиеся или покоящиеся клетки), особенности культивирования клеток (система культивирования, такая как колбы или флаконы или мешки, плотность посева или концентрация клеток), типа и концентрации вектора и (или) модифицирующего фермента, реагента для трансдукции или трансфекции, времени инкубации и компонентов питательной среды.

39. Генетическую модификацию клеток допускается проводить разными способами. Независимо от используемой системы все условия и стадии обработки должны быть разработаны и валидированы для

запланированных клинических функций и возможных связанных рисков применения генетически модифицированных клеток.

40. Необходимо представить подробное описание любой процедуры манипуляции. Генетическую модификацию необходимо выполнять с использованием валидированного производственного процесса. При использовании интегрирующихся векторов (например, лентивируса и ретровируса) множественность инфекции необходимо удерживать на минимуме, показавшем эффективность при помощи исследований эффективности трансдукции и клинических исследований. Для протоколов редактирования генома генерацию целевых и нецелевых модификаций необходимо рассматривать как часть процесса разработки и установления характеристик процесса производства. Необходимо представить оценку риска, чтобы изучить потенциальное появление нецелевых модификаций во время производства.

4.2.3. Дальнейшие производственные стадии

41. После процедуры генетической модификации клетки, как правило, проходят одну или более дополнительные производственные стадии. Примерами подобных стадий являются отмывка для элиминации от любых возможных стабильных или транзистентных примесей, связанных с системой генетической модификации (таких как вирусный вектор, плазмиды, модифицирующие ферменты и др.), обогащение, выделение, очистка или селекция и культивирование для дальнейшего наращивания объема материала (для достаточного роста клеток и достижения целевой дозы) перед приготовлением и фасовкой (наполнением) в окончательную упаковку.

42. В отношении генетически модифицированных клеток, для которых возможно создание системы банков клеток, необходимо обеспечить ее создание и контроль в соответствии с требованиями главы 1 настоящих Правил, Фармакопеи Союза, а при отсутствии необходимых статей в ней – в соответствии с фармакопеями государств-членов.

43. Для описания и контроля таких дополнительных производственных стадий применяются принципы, описанные в главе 1 настоящих Правил.

44. В некоторых случаях генетическая модификация осуществляется транзientным способом (например, при редактировании генома). Если материалы, используемые для модификации клеток, подлежат удалению, необходимо предусмотреть соответствующие контроли, чтобы продемонстрировать отсутствие таких материалов. В случае если материалы не удаляются, необходимо продемонстрировать отсутствие их активности.

45. В случае если предполагается, что транзientная активность будет продолжаться в течение определенного периода времени после введения лекарственного препарата, ее продолжительность и контроль исходя из фармакологических свойств лекарственного препарата должны быть описаны и подтверждены соответствующими экспериментальными данными.

4.2.4. Внутрипроизводственный контроль

46. Параметры процесса и внутрипроизводственные контроли должны быть определены на основе оценки и понимания источников изменчивости критических показателей качества (КПК), рисков,

связанных с каждым критическим показателем качества, и возможности проведения достаточно чувствительного теста для такого показателя.

47. Производственный процесс должен контролироваться при помощи параметров процесса и внутрипроизводственного контроля, чтобы оставаться в пределах их ожидаемых диапазонов для обеспечения качества активной фармацевтической субстанции и лекарственного препарата, воспроизводимости процесса и однородности готового продукта. Для автоматизированного производственного оборудования необходимо представить описание внутрипроизводственных контролей в регистрационном досье лекарственного препарата. Необходимо описать физические, химические, биологические или микробиологические свойства либо характеристики с соответствующим пределом, диапазоном или распределением, обеспечивающим качество продукта. Критические показатели качества включают в себя свойства или характеристики, которые влияют на идентификацию (подлинность), чистоту, биологическую активность и стабильность, и важны для процесса производства активной фармацевтической субстанции и лекарственного препарата.

48. Надлежащий внутрипроизводственный контроль необходимо выполнять на ключевых промежуточных стадиях производственного процесса независимо от используемой системы производства (открытой или закрытой), принимая во внимание критические показатели качества активного вещества и лекарственного препарата, чтобы обеспечить их качество. Внутрипроизводственный контроль должен охватывать молекулярные (например, геномную целостность, подлинность и стабильность; число копий вектора; эффективность трансдукции или

трансфекции, целевые и нецелевые модификации), клеточные (например, подлинность и чистота целевых клеток; кинетика роста; количественное содержание; жизнеспособность; иммунофенотип), производственные (например, температура, pH, потребление среды, растворенный кислород и (или) растворенный диоксид углерода, концентрация метаболита) и микробиологические аспекты.

4.3. Валидация производственного процесса

49. В дополнение к требованиям, описанным в отношении валидации производственного процесса в главе 31 настоящих Правил, необходимо представить информацию по следующим аспектам, если применимо:

- отсутствие посторонних агентов;
- отсутствие модифицирующих ферментов и нуклеиновых кислот;
- удаление инфекционных частиц;
- удаление остаточного свободного вектора;
- эффективность трансдукции или трансфекции;
- число копий вектора;
- подлинность и целостность трансгена (и других участков при необходимости);
- уровень экспрессии трансгена;
- структура и функция экспрессируемой молекулы (экспрессируемых молекул);
- удаление или элиминация целевых последовательностей нуклеиновой кислоты;
- удаление или снижение примесей, ассоциированных с генетической модификацией.

50. Ограниченная доступность клеток или тканей способна вызывать затруднение валидации процесса производства генетически модифицированных клеток. Подход к валидации процесса производства должен учитывать количество доступной ткани или клеток и способствовать получению максимального объема данных в отношении этого процесса с каждой произведенной серией. Сокращенную валидацию процесса производства необходимо компенсировать дополнительными внутрипроизводственными испытаниями (там, где это возможно), чтобы продемонстрировать постоянство производства.

51. Для валидации производственного процесса допустимо применение различных стратегий валидации в соответствии с подходами к валидации производства высокотехнологичных лекарственных препаратов, установленными в Правилах производственной практики.

52. Если используется производственная платформа для производства генетически модифицированных клеток с вирусными векторами (например, та же самая клеточная популяция с различиями в векторных конструкциях), масштаб дополнительной валидации в отношении нового продукта должен основываться на обоснованной и документированной оценке риска для каждой существенной стадии процесса, с учетом объема знаний о производственном процессе и предыдущих валидационных данных. В случае наличия в новом производственном процессе определенных производственных стадий аналогичных стадиям на которых ранее была выполнена валидация при производстве иных подобных (аналогичных) лекарственных препаратов, результаты такой валидации можно использовать для обоснования валидации такого нового производственного процесса.

53. В случае если в производственном процессе используется автоматизированное оборудование, квалифицированное для использования по назначению в соответствии с требованиями Правил производственной практики, его валидационные данные допускается использовать для обоснования валидации производственного процесса при условии использования такого квалифицированного оборудования исключительно в соответствии с его целевым предназначением и наличии детального обоснования возможности учета полученных при его квалификации валидационных данных. Сам по себе факт квалификации оборудования не достаточен для подтверждения его пригодности в валидированном производстве генетически модифицированные клеток. Валидационные данные, требуемые на этапе регистрации, должны соотноситься с режимом работы и конкретными настройками автоматизированного оборудования в производственном процессе.

54. В случае если осуществляется хранение промежуточных продуктов, необходимо валидировать условия хранения (например, время, температуру) и транспортировку (если применимо).

4.4. Изменения в производственном процессе

55. Разработка продуктов генетически модифицированных клеток включает в себя изменения производственного процесса самого лекарственного препарата или изменения в производстве исходных материалов (например, вирусного вектора, источника клеток, модифицирующего фермента), которые могут влиять на качество и безопасность лекарственного препарата. Важно, чтобы все изменения, вносимые во время разработки, были однозначно идентифицированы в

регистрационном досье лекарственного препарата. Необходимо провести соответствующие исследования сопоставимости, для того чтобы:

сравнить продукт до и после внесения изменения в производственный процесс;

оценить влияние любого наблюдаемого различия на показатели качества в той части, в которой оно относится к безопасности и эффективности продукта.

5. Исследования сопоставимости

56. Необходимо проводить соответствующие исследования сопоставимости в соответствии с принципами, изложенными в главе 9.1 настоящих Правил в отношении биотехнологических (биологических) лекарственных препаратов, чтобы продемонстрировать сопоставимость готового продукта до и после внесения изменений производственного процесса. В отношении всех выполняемых сравнительных аналитических испытаний необходимо подтвердить, что использованные методы являются достаточно чувствительными, для того чтобы распознать значимые различия между продуктом до и после его изменения.

57. Как правило, изменения на одной стадии производственного процесса самого лекарственного препарата или исходных материалов будут требовать оценки влияния на все последующие критичные внутрипроизводственные стадии и внутрипроизводственный контроль. Масштаб исследований сопоставимости необходимо определять после оценки риска, чтобы оценить потенциальное влияние на изменение и стадию разработки препарата. Демонстрация сопоставимости не обязательно должна включать в себя подтверждение того, что

качественные характеристики готового продукта до и после изменения производственного процесса идентичны, но она должна гарантировать, что продукты в значительной степени сопоставимы и что имеющиеся данные являются в достаточной степени прогностическими, для того чтобы гарантировать, что любые различия в качественных характеристиках не окажут неблагоприятного влияния на безопасность и эффективность лекарственного препарата.

58. Если в показателях качества продукта до и после изменения производственного процесса выявлены различия, которые оказывают возможное нежелательное влияние на безопасность и эффективность лекарственного препарата, необходимо предусмотреть проведение дополнительных доклинических и (или) клинических исследований.

6. Изменения в производственном процессе

6.1. Изменения, касающиеся рекомбинантных исходных материалов

59. Любое изменение в производственном процессе, касающееся рекомбинантных исходных материалов, должно оцениваться на предмет риска его влияния на качество исходных материалов. Необходимо провести соответствующие исследования сопоставимости в соответствии с принципами, изложенными в главе 9.1 настоящих Правил в отношении биотехнологических (биологических) лекарственных препаратов, чтобы продемонстрировать сопоставимость исходного материала до и после внесения изменения в производственный процесс. Проводимые исследования предусматривают сравнение исходного материала до и после внесения изменения в производственный процесс на уровне выпуска,

включая расширенное установление характеристик исходного материала. Расширенное установление характеристик исходного материала должно включать в себя ключевые показатели, определенные в первоначальных исследованиях по установлению характеристик лекарственного препарата. В случае если характеристики исходного материала не являются частью спецификации на выпуск, сопоставимость в отношении изменений с высоким риском влияния на качество продукта должна включать в себя в соответствующих случаях проведение:

- полного секвенирования вектора;
- анализа присутствия капсидных белков;
- анализа на отсутствие вируса, способного к репликации;
- определения производственных и родственных примесей, а также исследования стабильности.

60. В дополнение к исследованию сопоставимости рекомбинантного исходного материала, необходимо выполнить исследования сопоставимости лекарственного препарата, чтобы продемонстрировать влияние на значимые критические показатели качества этого лекарственного препарата. Такое исследование включает в себя испытания на эффективность трансдукции или трансфекции, определение количества копий вектора, уровня экспрессии трансгена, оценки целевых и нецелевых модификаций и т. д.

6.2. Изменения в клеточном исходном материале

61. Изменения в процессе производства могут затрагивать источник клеток (например, от костного мозга до мобилизованных периферических клеток крови), метод изоляции требуемой субпопуляции клеток,

внедрение стадии замораживания во время приготовления клеточного исходного материала и т. д. В зависимости от результатов оценки риска изменения на уровне клеточного исходного материала могут требовать сопоставимости установления внутрипроизводственных характеристик (например, сравнение эффективности очистки между двумя методами или качества клеток до и после заморозки).

62. Влияние внесенных изменений в процесс производства на качество лекарственного препарата необходимо рассмотреть при сравнении лекарственного препарата до и после внесения изменений в процесс производства при выпускающем контроле и при помощи расширенного установления характеристик. В зависимости от результата оценки риска выполняется исследование сопоставимости внутрипроизводственных контролей.

6.3. Изменения в производственном процессе активной фармацевтической субстанции или лекарственного препарата

63. Любое изменение в производственном процессе необходимо оценивать на предмет его риска влияния на качество лекарственного препарата. Результаты такой оценки определяют масштаб исследования сопоставимости. Для изменений, в отношении которых сделан вывод об их высоком риске (таких как изменение места производства, сопоставимость лекарственного препарата до и после изменений) исследования сопоставимости должны включать в себя испытания выпускающего контроля, соответствующие исследования стабильности, расширенное

установление характеристик и внутрипроизводственный контроль, а также оценку любого значимого параметра производственного процесса.

64. Исследования, в которых используется донорский клеточный материал, проводятся с использованием клеток от здоровых доноров, если это обосновано. В целях установления сопоставимости необходимо рассмотреть использование разделенных образцов из одного источника клеток, полученных из одной донации или пула нескольких донаций (например, в случае недостаточности материала для разделения его можно получить из единой донации). Если полностью оценить параметры (например, экспрессию трансгена, направленную на коррекцию генетических дефектов) на здоровых клетках невозможно, серии с клетками пациента после модификации необходимо дополнительно ретроспективно сравнить с сериями клеток пациента до их модификации.

7. Установление характеристик лекарственного препарата

65. Установление характеристик лекарственного препарата необходимо выполнять в соответствии с указаниями главы 31 настоящих Правил.

66. Установление характеристик лекарственного препарата, содержащего генетически модифицированные клетки (изолированного или в комбинации с медицинским изделием) является обязательным видом исследований. Исследования по установлению характеристик направлены на выявление критических показателей качества (молекулярных и биологических характеристик, оказавшихся необходимыми для обеспечения постоянства), а также безопасности и эффективности такого препарата. Исследования по установлению характеристик лекарственного

препарата используются для обоснования совокупности испытаний выпускающего контроля.

67. При проведении исследований необходимо использовать широкий спектр квалифицированных молекулярных, биологических и иммунологических методов в отношении установления следующих характеристик лекарственного препарата в зависимости от обстоятельств:

- а) идентификация (подлинность) и жизнеспособность клеток;
- б) определение фенотипа и морфологии клеток;
- в) оценка гетерогенности клеточной популяции (например, доля субпопуляций);
- г) способность к пролиферации и (или) дифференцировке генетически модифицированных клеток;
- д) оценка функциональности клеток (отличной от пролиферации и дифференцировки) (если применимо);
- е) оценка эффективности трансдукции или трансфекции (например, доля трансдуцированных клеток);
- ж) анализ последовательности и целостности трансгена;
- з) оценка генетической стабильности после пролиферации *in vitro* и (или) дифференцировки;
- и) подлинность и активность продукта экспрессируемого гена;
- к) количество копий вектора на трансдуцированную или трансфицированную клетку;
- л) профиль интеграции вектора (если применимо);
- м) удаление или элиминация вектора или трансгенов (если применимо);
- н) высвобождение вектора из клеток;

- о) способность вектора к репликации и возможность реактивации (если только это не продемонстрировано на уровне исходного материала);
- п) персистенция инструментов редактирования генома в клетках;
- р) целевые и нецелевые генетические модификации.

68. Необходимо изучить и проанализировать данные о высвобождении вектора и (или) репликации вектора в отношении риска выделения в окружающую среду и мобилизации вектора. Возможность реактивации вектора необходимо оценить и включить в анализ риска.

69. Количество копий вектора на трансдуцированную или трансфицированную клетки необходимо обосновывать в отношении данных о безопасности и целевого назначения продукта. Чтобы рассмотреть риск инсерционного мутагенеза, профиль интеграции интегрирующихся векторов или плазмид необходимо изучить в отношении известных онкогенов и генов – супрессоров опухолей (если применимо). Для идентификации профиля интеграции установленных клинически клонов проводится скрининг интеграции вектора у пациентов после введения лекарственного препарата (если применимо).

70. Ограниченное исследование участка интеграции допускается в случае предоставления детального обоснования возможности такого подхода и наличия расширенных данных по характеристике распределения участка вставки от того же вектора с использованием тех же клеток и промотора и др., но с другой последовательностью трансгена.

71. В случаях, если генетически модифицированные клетки обладают пролиферативным потенциалом и предназначены для поддержания активности *in vivo* по восполнению популяции или ее увеличению, следует

изучить клональность и целостность хромосом генетически модифицированных клеток.

72. Эффективность трансдукции или трансфекции и экспрессии трансгена (или в случае редактирования генома – доля генетически модифицированных клеток) необходимо обосновать в соответствии с данными по клинической эффективности.

73. Необходимо подробно охарактеризовать однородность и генетическую стабильность генетически модифицированных клеток. Необходимо надлежащим образом документировать любые наблюдаемые непредвиденные изменения морфологии клеток, их функций и поведения (например, характеристик миграции генетически модифицированных клеток при сравнении с первоначальными немодифицированными клетками). Любые непредвиденные модификации фенотипа, свойств пролиферации или дифференцировки и функциональной активности клеток необходимо изучить и рассмотреть исходя из целевого назначения лекарственного препарата. Необходимо изучить мишени индуцированного модификацией (вызванное целевыми клетками) повышения иммунной активности (например, при иммунотерапии рака).

74. Следует установить характеристики гетерогенности в отношении субпопуляций клеточных типов (например, для Т-клеток – CD4+, CD8+ или Т-клетки памяти, для генетически модифицированных CD34+ клеток релевантной субпопуляцией будут короткоживущие и долгоживущие клетки-предшественники).

75. В отношении клеток, модифицируемых с использованием инструментов редактирования генома, необходимо идентифицировать индуцированные нецелевые изменения с использованием, по меньшей

мере, одного чувствительного и подробно охарактеризованного анализа на клеточном типе, который будет использоваться в терапевтических целях, или в суррогатных условиях (например, здоровых донорских клетках). Допускается использовать соответствующие инструменты для скрининга *in silico*. Однако, при этом не все нецелевые мишени, идентифицированные при помощи такого подхода, могут в последующем возникнуть или быть верифицированы на клетках, в конечном итоге используемых для редактирования генома. В этой связи, такую совокупность возможных геномных участков в последующем необходимо проанализировать при помощи глубокого секвенирования (или другого соответствующего метода) на фактическом клеточном типе, который будет использоваться в медицинской практике и производиться в соответствии с предлагаемым протоколом и уровнем экспрессии гена или дозой нуклеазы. Необходимо проанализировать достигнутую чувствительность и использованные контроли качества, особенно при наличии отрицательных результатов исследования. Необходимо также учесть возможное возникновение крупных делеций, хромосомных транслокаций и других крупномасштабных геномных изменений на основании фактического профиля целевых и нецелевых эффектов, верифицированных на обрабатываемых клетках, и оценить связанный с ним потенциальный риск. Оценка риска будет также зависеть от целевых клеток-мишеней.

76. Таргетное редактирование генома необходимо подробно охарактеризовать, чтобы установить, в какой степени целевой участок правильно редактируется, и произошли ли запланированные изменения в области целевого участка генома. При наличии различий в исходном

материале между сериями (например, аутологичные клетки), необходимо оценить потенциальные различия при нецелевых эффектах.

77. Поскольку редактирование генома – это быстро развивающаяся область, в отношении стратегии испытаний и оценки целевых и нецелевых изменений допускается применять риск-ориентированный подход на основании актуальных научных знаний.

78. Необходимо установить аспекты, значимые для приживления, *in vivo* экспансии или дифференцировки клеток *in vivo* (при необходимости), а также выживания модифицированных клеток (в том числе долгосрочного), и при необходимости включить эти параметры в спецификации на выпуск.

7.1. Идентификация (подлинность)

79. Испытания на идентификацию (подлинность) должны включать анализы для выявления наличия специфической клеточной популяции, а также предполагаемой модификации (на уровне ДНК или анализ для выявления наличия планируемого продукта, транслируемого в результате генетической модификации, на уровне белка). Методы испытаний должны быть специфичны в отношении таких компонентов.

7.2. Чистота

80. Чистота, как правило, относится к целевому типу клеток и эффективности трансдукции или трансфекции и редактирования генома, (доле генетически модифицированных клеток). Степень чистоты должна определяться, с учетом природы и целевого назначения лекарственного

препарата, метода его производства, а также степени постоянства процесса производства.

81. Критерии приемлемости по показателю чистота должны быть определены и находиться в установленных пределах. Испытания необходимо применять для определения содержания таких клеточных примесей, как другие клеточные типы, включая модифицированные ненамеренно, нетрансдуцированные, нетрансфицированные или немодифицированные после редактирования генома целевые клетки и клеточные фрагменты. Кроме того, необходимо проводить испытания на неклеточные материалы-примеси, которые могли быть добавлены во время процесса производства.

82. Если вирусный вектор используется для трансдукции, необходимо определять содержание инфекционных частиц в лекарственном препарате и удерживать их ниже обоснованного предела. При использовании транспозонов необходимо подтвердить, что полученная клеточная популяция не проявляет транспозазную активность.

83. В случае редактирования генома необходимо оценивать персистенцию инструментов редактирования генома в клетках. В идеальном случае инструменты редактирования генома больше не должны присутствовать в составе лекарственного препарата, когда он выпускается в обращение. Персистенция может зависеть от вектора, используемого для внедрения инструментов редактирования генома в клетки. Если применимо, необходимо включить испытание на присутствие инструментов редактирования генома при выпускающем контроле.

84. Если последовательности чужеродной нуклеиновой кислоты были удалены или элиминируются в полученной клеточной популяции как

при транзientной генетической модификации, необходимо провести испытания для демонстрации отсутствия клеток, несущих последовательности чужеродных нуклеиновых кислот.

85. В отношении репликативно-дефектных вирусных векторов необходимо провести испытания на демонстрацию отсутствия способных к репликации вирусов; вместе с тем, если отсутствие способных к репликации вирусов подтверждено на других уровнях (например, на уровне исходного материала, вирусного вектора), проведение дополнительных испытаний не требуется при условии, что возникновение способных к репликации вирусов во время производства исключается при помощи соответствующей оценки риска. Анализ на наличие способных к репликации вирусов должен иметь соответствующий предел обнаружения, обоснованный путем оценки риска с учетом сценария наихудшего случая и выраженный в единицах на дозу для человека.

7.3. Активность

86. Для оценки активности генетически модифицированных клеток, необходимо использовать биологические испытания для определения функциональных свойств клеток (там, где применимо) и свойств, достигаемых при помощи генетической модификации.

87. Испытания на активность должны позволять получить (насколько это возможно) количественные сведения о целевой функции клетки и экспрессии трансгена. Выбор испытания на активность при выпускающем контроле качества необходимо обосновать на основании исследований по установлению характеристик продукта и его пригодности в качестве выпускающего контроля качества с учетом практических ограничений

(например, объем доступного материала или ограниченный срок годности лекарственного препарата). Испытания на биологическую активность на тканях животных, культивируемых *ex vivo*, или на животных проводятся только в тех случаях, когда невозможно разработать подходящий метод *in vitro*, поскольку испытания на тканях животных или на животных имеют высокую вариабельность, ограниченную способность предсказать биологическую активность лекарственного препарата у человека и не соответствуют принципам 3 R.

88. Во всех возможных случаях необходимо создавать референтную серию клеток с назначенной активностью и использовать ее для калибровки испытаний. В отношении инструментов используемых для генетической модификации клеток (например, векторов, рекомбинантных белков), также необходимо создать референтную серию.

89. Испытания на активность не должны ограничиваться оценкой функциональной активности клеток, а также должны включать в себя другие значимые испытания (например, оценку жизнеспособности клеток). Необходимо предусмотреть выпускающие испытания с оценкой потенциала пролиферации, дифференцировки и персистенции после введения лекарственного препарата (при необходимости).

90. Испытания на активность продуктов, содержащих генетически модифицированные Т-клетки против опухолевых клеток (например, CAR-T клетки), должны основываться на цитотоксическом потенциале Т-клеток. В связи с этим результаты анализа включают в себя фактическую гибель опухолевых целевых клеток или индукцию внутриклеточных путей и нарушение целостности мембраны целевых клеток, в отношении которых показано, что такое нарушение целостности мембраны ведет к

необратимой их гибели. Суррогатными показаниями в отношении биологической активности продуктов CAR-T клеток может быть секреция специфических цитокинов либо цитотоксических молекул или экспрессия Т-клетками маркеров активации или дегрануляции при условии, что подтверждена связь с гибелью клеток-мишеней. Если аутологичный опухолевый материал не может быть использован в качестве объекта исследования, необходимо обосновать применимость суррогатного материала.

8. Требования к контролю качества лекарственных препаратов, содержащих генетически модифицированные клетки

8.1. Критерии выпускающего контроля

91. Помимо общих фармацевтических испытаний (например, на стерильность, бактериальные эндотоксины, внешний вид и др.), испытания выпускающего контроля должны включать в себя анализ количества клеток, определение подлинности, чистоты, примесей (родственных и производственных) и активности. Требования к установлению характеристик этих параметров аналогичны требованиям раздела 7 настоящей главы.

92. Подсчет числа копий интегрированных векторов на трансдуцированную или трансфецированную клетку в качестве параметра для безопасности и активности, должен проводиться на каждой серии лекарственного препарата.

93. В отношении продуктов с редактированным геномом испытания на целевые и нецелевые модификации на каждой серии необходимо рассматривать в индивидуальном порядке.

94. Если чужеродный генетический материал был удален или элиминирован из лекарственного препарата, это необходимо продемонстрировать при выпускающем контроле качества с помощью соответствующего чувствительного метода.

95. В отношении клеток, трансдуцируемых при помощи репликативно-дефектного вектора перед клиническим применением лекарственного препарата необходимо подтвердить отсутствие способных к репликации вирусов. В зависимости от риска образования способных к репликации вирусов исключение анализа на их наличие на уровне лекарственного препарата может быть обосновано, только в случае если отсутствие способных к репликации вирусов подтверждается при выпускающем контроле вектора с использованием валидированного чувствительного метода анализа (или комбинации методов анализа).

96. В случае невозможности выполнения испытаний выпускающего контроля на готовом продукте (например, когда взятие проб невозможно или количество лекарственного препарата ограничено), необходимо проводить испытания на суррогатном продукте, либо проводить анализ ключевых промежуточных продуктов. В этом случае необходимо подтвердить валидность таких анализов в качестве анализов, характеризующих готовый продукт (например, в ходе валидации процесса производства).

97. В исключительных и надлежащим образом обоснованных случаях, которые необходимо оценивать в индивидуальном порядке, выполняется программа двухэтапного выпуска, по которой некоторые выпускающие данные доступны только после клинического применения лекарственного препарата. В подобных случаях недостающие сведения на

первой стадии выпуска необходимо компенсировать при помощи соответствующих внутрипроизводственных испытаний и более обширной валидации процесса производства. Ступенчатая программа испытаний выпускающего контроля должна быть подробно описана и обоснована. В случае если объем материала продукта ограничен, полные испытания выпускающего контроля проводятся по сокращенной программе, основанной на индивидуальном риск-ориентированном подходе для конкретного лекарственного препарата.

8.2. Исследование стабильности

98. Исследование стабильности (включая исследования стабильности во время применения лекарственного препарата) необходимо проводить в соответствии с принципами, описанными в главе 31 настоящих Правил. Показатели качества, подлежащие отслеживанию в исследованиях стабильности, должны задаваться на основании исследований по установлению характеристик продукта. Показатели качества должны быть количественными, позволять оценить стабильность и выявлять клинически значимые изменения в продукте.

9. Действия по восстановлению лекарственного препарата

99. Восстановление лекарственного препарата включает в себя действия, которые производятся с лекарственным препаратом после выпуска его серии, но перед введением пациенту и которые нельзя рассматривать в качестве стадии производства. Действия по восстановлению лекарственного препарата могут выполняться в месте

введения (например, в медицинских учреждениях) вне условий, соответствующих требованиям Правил производственной практики. В отношении каждой стадии процесса восстановления необходимо обосновать, что она не может быть выполнена в рамках производственного процесса перед выпуском серии без негативного влияния на лекарственный препарат. Вместе с тем ни одно действие, влекущее существенную манипуляцию, не может рассматриваться в качестве восстановления (например, культивирование). Дополнительные требования к манипуляциям приведены в разделе по высокотехнологичным лекарственным препаратам Правил производственной практики.

10. Доклиническая разработка

100. Целью доклинических исследований является подтверждение доказательства принципа действия лекарственного препарата и определение его фармакологических и токсикологических эффектов, предсказывающих реакции человека на введение препарата. При проведении доклинических исследований лекарственного препарата, содержащего генетически модифицированные клетки, необходимо учитывать требования к проведению доклинических исследований иных групп высокотехнологичных лекарственных препаратов

101. Причины для генетической модификации клеток разнообразны и включают в себя, например, внедрение функциональной копии мутированного гена для коррекции генетического заболевания, усиление клеточной активности для производственных или терапевтических целей либо внедрение механизма для элиминации введенных клеток при

необходимости. В соответствии с целью генетической модификации фармакодинамические исследования могут требовать адаптации. В связи с этим необходимо четко указать цель генетической модификации клеток и ожидаемый принцип действия.

102. Если практически возможно выполнить, то доклинические исследования необходимо планировать так, чтобы обосновать выбор доз для клинических исследований, путь введения и схему применения. В отношении генетически модифицированных клеток которые должны пролиферировать *in vivo* (например, Т-клетки с химерным антигенным рецептором (CAR) или модифицированным Т-клеточным рецептором (TCR)), доклинические исследования по выбору дозы менее информативны, поэтому выбор дозы должен основываться на комбинированном анализе доклинических данных и на клиническом опыте применения других родственных лекарственных препаратов.

103. В идеальном случае доклинические исследования необходимо проводить на сериях генетически модифицированных клеток, полученных и прошедших контроль качества в соответствии с процессом производства лекарственного препарата для клинических исследований. Если это невозможно (например, при использовании гомологичных продуктов), необходимо оценить ключевые параметры эффективности и безопасности используемых генетически модифицированных клеток и сравнить их с клетками, получаемыми и контролируемые в соответствии с процессом производства лекарственного препарата для клинического применения. Необходимо отметить различия в процессах производства, а также различия в ключевых параметрах генетически модифицированных клеток и проанализировать потенциальное влияние на прогностическую ценность

данных. Необходимо использовать передовые и квалифицированные методы.

104. Доклинические исследования необходимо проводить на релевантных *in vitro*, *ex vivo* или животных моделях, учитывая целевую клеточную популяцию, клинические показания и пути введения лекарственного препарата. Если необходимо, *in vivo*-исследования на животных необходимо тщательно планировать, чтобы обеспечить получение надежных данных, учитывая при этом принципы 3R (замена, улучшение и сокращение). Необходимо избегать любых испытаний на животных, приводящих к неоднозначным данным. Если это возможно, испытания на животных необходимо заменить исследованиями *in vitro* или *ex vivo*. С этой целью оптимальны разработка и использование клеточных и тканевых моделей (включая 2D- и 3D-тканевые модели), органоидов и микрофлюидных технологий, моделей *in silico* или других подходов без использования животных. К использованию животных следует прибегать в тех случаях, где это неизбежно и допустимо. Если выполнимо, то в одном исследовании допускается изучить несколько аспектов. Исследования на животных моделях могут быть осложнены ксенореакциями, вызываемыми иммунной реакцией хозяина на введенные клетки, и (или) видоспецифичностью продукта экспрессии трансгена. В таких случаях преимуществом могут обладать гомологичные модели или иммунодефицитные животные. Любая модификация конструкции вектора и (или) клеток-мишеней, осуществляемая для получения гомологичной животной модели, должна быть подробно описана и обоснована по сравнению с лекарственным препаратом.

10.1. Фармакодинамика и фармакокинетика

105. Независимо от вида генетической модификации (редактирование генома, введение регуляторных последовательностей, введение трансгена), ее ожидаемый эффект необходимо подтвердить на клеточном уровне. Исследования включают в себя оценку специально внедренных изменений в геном клеток, оценку экспрессии эндогенного гена после внедрения экзогенных регуляторных последовательностей или оценку экспрессии трансгена и оценку активности продуктов экспрессии трансгенов, если выполнимо.

106. В некоторых случаях итоговое поведение и функцию модифицированных клеток необходимо изучить *in vitro* и, если это целесообразно и выполнимо, сравнить с немодифицированными клетками. В случае если ожидается, что немодифицированные клетки также будут иметь терапевтический эффект, необходимо напрямую сравнить фармакологический эффект генетически модифицированных клеток с немодифицированными клетками, чтобы отличить эффекты, обусловленные продуктом, от эффектов обусловленных продуктом, экспрессируемым не генетически модифицированными клетками.

107. Необходимо представить результаты исследований проверки (доказательства) концепции, которые обосновывают потенциальный клинический эффект и (или) доказывают ожидаемый принцип действия генетически модифицированных клеток. Вместе с тем демонстрация *in vivo* концепции на животных моделях может оказаться невыполнимой. Например, если специфический антиген-мишень экспрессируется при заболеваниях с разной патофизиологией (например, CD19 при

гемобластозах и солидных опухолях), необходимо подтвердить научную гипотезу при помощи исследований механизма действия *in vitro*, специфичного для мишени.

108. Продолжительность экспрессии трансгена необходимо оценивать *in vivo*, если не обосновано иное. В случае непредвиденного отсутствия или, наоборот, повышения экспрессии трансгена необходимо провести дополнительные исследования, чтобы определить причины изменения экспрессии. В отношении лекарственных препаратов, предназначенных для обеспечения долгосрочной пользы, используются суррогатные *in vivo*-модели, чтобы получить доказательство стабильности экспрессии трансгена в течение значимого для долгосрочной пользы периода времени. В отношении клеток, которые были инкапсулированы и разработаны для секреции продукта гена, необходимо представить данные, подтверждающие выживаемость генетически модифицированных клеток *in vivo* и соответствующую секреторирующую активность.

109. Любые дополнительные структуры, которые были введены в трансген или в модифицированные клетки, направленные, например, на регулирование экспрессии трансгена или осуществление преднамеренной элиминации генетически модифицированных клеток, необходимо провести оценку их надлежащего функционирования.

110. Фармакокинетические исследования необходимо планировать таким образом, чтобы изучить дальнейшее существование *in vivo* генетически модифицированных клеток (биораспределение, направленная миграция клеток, приживание, стабильность и персистенцию). Необходимо детально изучить возможность трансляции данных, получаемых на моделях *in vivo*. Например, на ксенотрансплантатных

опухолевых моделях, которые не соответствуют локализации опухолей у человека, биораспределение может не отражать клиническую ситуацию.

111. В отношении секретируемых продуктов генов в анализ необходимо включить местную и (или) системную экспозицию и персистенцию продукта экспрессии трансгена.

112. В случае если генетически модифицированные клетки инкапсулируются в биосовместимый материал, в целях предотвращения биораспределения клеток, необходимо провести соответствующие исследования, которые либо продемонстрируют целостность биосовместимого материала *in vivo* и успешное удержание клеток, либо оценить биораспределение, и длительность персистенции *in vivo* мигрировавших жизнеспособных клеток.

113. Риск генеративной передачи, связанный с введением генетически модифицированных клеток человека, считается низким и сложно поддающимся оценке в доклинических исследованиях. В связи с этим отсутствие подобных исследований необходимо обосновать, если только генетически модифицированные клетки не несут значительно более высокий риск непреднамеренной генеративной передачи (например, из-за мобилизации интегрированных векторных последовательностей или высвобождения вектора).

10.2. Токсикологические исследования

114. Конечные точки при токсикологической оценке необходимо оценить в *in vitro*- и (или) *in vivo*-исследованиях, которые необходимо спланировать таким образом, чтобы было возможным изучение любых нежелательных эффектов, вызванных генетически модифицированными

клетками. Для токсикологической оценки следует также учитывать требования, приведенные в отношении соматотерапевтических лекарственных препаратов, изложенные в главе 31 настоящих Правил.

115. Кроме того, в отношении генетически модифицированных клеток необходимо изучить следующие вопросы:

- а) токсичность, обусловленную экспрессией трансгена;
- б) риск инсерционного мутагенеза;
- в) мобилизацию и рекомбинацию вектора;
- г) аспекты, обусловленные конкретным классом продукта, таким как иммунные клетки (Т-клетки с CAR или модифицированным TCR, НК-клетки), индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и клетки с отредактированным *ex vivo* геном.

10.2.1. Токсичность, обусловленная экспрессией трансгена

116. Токсические эффекты могут вызываться продуктами экспрессии трансгена. Продукты экспрессии трансгена могут вызывать неблагоприятные эффекты для клеток-носителей или хозяина, которому они вводятся, если экспрессируются в количествах, превышающих физиологический уровень, в эктопических местах, если они вызывают иммунную реакцию или если экзогенный трансген взаимодействует с нецелевыми белками человека.

117. Потенциал токсических эффектов продукта экспрессии трансгена в отношении клеток-носителей необходимо оценивать *in vitro*, для того чтобы подтвердить, что генетически модифицированные клетки сохраняли свою нормальную физиологическую функцию и не

приобретали свойства, которые повлияли бы на их функциональность *in vivo*.

118. Токсикологические исследования необходимо планировать так, чтобы выявить любые нежелательные эффекты, связанные с экспрессией трансгена, локально или системно. Сведения об уровне и продолжительности экспрессии трансгена должны определять дизайн и продолжительность исследования токсичности. Потенциальный иммунный ответ на продукт экспрессии трансгена в негомологичной системе может привести к преждевременной его элиминации и его необходимо учитывать, поскольку он может снижать валидность исследования токсичности.

119. Продукты экспрессии трансгена часто могут обладать видоспецифичными эффектами, которые затрудняют планирование токсикологических исследований. Соответствующие испытания *in vivo* на суррогатных животных моделях следует спланировать так, чтобы избирательно изучить токсичность, связанную с человеческим трансгеном в компартменте, воссозданном в организме ксеногенного хозяина, либо вместо использования хозяин-специфичного трансгена получить суррогатную оценку его совокупной токсичности для хозяина, хотя и с ограничениями, связанными с использованием другой трансгенной последовательности, отличной от планируемого терапевтического продукта, и видоспецифичных различий в биологической активности гомологичных продуктов гена.

10.2.2. Инсерционный мутагенез и образование опухолей

120. Если клетки трансдуцируются интегрирующимися векторами (например, гамма-ретровирусными или лентивирусными), необходимо тщательно оценить риск инсерционного мутагенеза и, как следствие, возможного онкогенеза. Критические факторы, которые могут способствовать риску возникновения онкогенеза, включают в себя профиль интеграции выбранного вектора в геном, дизайн вектора, включая выбор энхансерных и промоторных последовательностей, количество копий вектора на клетку, продукт экспрессии трансгена и целевую клеточную популяцию. Необходимо указать в регистрационном досье любую стратегию, направленную на сокращение риска инсерционного мутагенеза (например использование гамма-ретровирусного или лентивирусного вектора с самоинактивирующейся конфигурацией).

121. В отношении генетически модифицированной клеточной линии необходимо определить участок интеграции вектора и избегать любой интеграции вектора в критические участки (например, вблизи протоонкогенов). Кроме того, необходимо продемонстрировать, что участок интеграции не вызывает инсерционного мутагенеза, если не обосновано иное.

122. В отношении генетически модифицированных аутологичных или аллогенных клеточных популяций нельзя исключить редкие явления интеграции вектора в критические участки при использовании векторов, интегрирующихся в случайные локусы генома. В исследованиях *in vivo* на животных часто невозможно получить предиктивные доклинические данные, поскольку из-за иммуногенности клетки человека невозможно

испытать на животных. Кроме того, считается, что гомологичные модели с репрезентативными клетками животных в большинстве случаев не позволяют получить интерпретируемые сведения о безопасности для человека, поскольку источник и производство клеток, а также профиль интеграции вектора в клетках животных и человека могут различаться. В связи с этим следует провести оценку риска инсерционного мутагенеза, основанную на знании профиля интеграции вектора в геном, регуляторного потенциала энхансерных и промоторных последовательностей, используемых для активации экспрессии трансгена, пролиферативного потенциала целевых клеток и знания резистентности целевых клеток к клеточной трансформации. В отношении аллогенных продуктов допускается проведение анализа участков интеграции *in vitro* в пределах срока годности (срока хранения) лекарственного препарата перед введением человеку. При наличии риска онкогенеза следует предусмотреть мониторинг в клинических исследованиях участков вставки и клональности клеток пациентов после вмешательства путем выполнения частых анализов (с учетом положений раздела 11.8 настоящей главы).

123. В отношении интеграции последовательностей вектора в определенный участок необходимо продемонстрировать, что выбранный участок интеграции безопасен, и интеграция будет осуществляться специфично.

10.2.3. Мобилизация и рекомбинация вектора

124. Риск мобилизации и рекомбинации вектора с эндогенными вирусами необходимо оценивать, основываясь на типе вектора, дизайне

вектора, клеточной популяции лекарственного препарата и целевой популяции пациентов. Только в том случае, если очевиден повышенный риск этих явлений, необходимо провести доклинические исследования, для изучения мобилизации и рекомбинации вектора.

10.3. Вопросы доклинической разработки, специфичные для определенных классов лекарственных препаратов

125. Настоящий раздел содержит научные принципы и указания по доклинической разработке генетически модифицированных клеток следующих групп:

лекарственные препараты на основе Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-Т-клетки) или Т-клеточным рецептором (TCR);

лекарственные препараты на основе клеток, получаемые из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток;

лекарственные препараты на основе клеток, полученных в результате редактирования генома.

126. Учитывая ограниченный клинический опыт применения подобных лекарственных препаратов и быстрое развитие научных исследований в этой области указания в настоящем разделе необходимо рассматривать в качестве рамочных требований.

10.3.1. Иммунные клетки (CAR- и TCR-модифицированные Т-клетки, NK-клетки)

127. В отношении CAR- и TCR-модифицированных иммунных клеток необходимо изучить потенциал целевой и нецелевой токсичности

насколько это допускается соответствующей животной моделью или с помощью альтернативного подхода с использованием комбинации *in silico* и *in vitro* анализов. Альтернативный подход для изучения целевой токсичности обычно показан для TCR- и CAR- модифицированных иммунных клеток, содержащих scFv (одноцепочечный вариабельный фрагмент), который распознает исключительно эпитоп клеток человека. Альтернативный подход должен включать детальный анализ экспрессии антигена-мишени в органах, тканях и клетках человека.

128. Исследование экспрессии антигена-мишени выполняется путем анализа клеток и тканей здоровых индивидуумов. Анализ базы данных экспрессии генов и научные данные позволяют выяснить способность к различной экспрессии антигена-мишени при определенных патофизиологических состояниях. Необходимо подтвердить экспрессию опухоль-специфичного антигена в целевых клетках. Клетки человека с экспрессией антигена-мишени или без нее необходимо испытать *in vitro* на предмет распознавания иммунными клетками с CAR или модифицированным TCR.

129. В случае если для оценки целевой токсичности иммунных клеток с модифицированным CAR используется гомологичная модель с использованием другого scFv, который распознает ортологичный эпитоп, требуется осторожность при транслировании подобных данных на человека, поскольку профиль экспрессии и содержание экспрессируемого антигена-мишени у человека и животных, а также аффинность к антигену-мишени двух scFv могут различаться. Следует учитывать, что подобная модель не позволяет оценить потенциальную нецелевую токсичность ввиду использования другого scFv.

130. Для оценки потенциальной нецелевой токсичности иммунных клеток с модифицированным TCR выбранная стратегия адаптируется под ожидаемую вероятность перекрестной реактивности TCR. Например, ожидаемая вероятность того, что TCR, полученный от человека, будет перекрестно реагировать с собственными пептидами человека, является низкой за счет индукции центральной толерантности, которая должна элиминировать Т-клетки с высокой аффинностью TCR к собственным пептидам человека. Для TCR, получаемых из ксеногенных источников, и высокоаффинных TCR, с другой стороны, нельзя ожидать наличия низкого риска перекрестной реактивности. В связи с этим требуется более жесткая стратегия испытаний в отношении подобных TCR.

131. Испытания иммунных клеток с модифицированным TCR на нецелевую токсичность должны включать в себя испытания *in vitro* на связывание иммунных клеток с модифицированным TCR с собственными пептидами, представляемыми на том же HLA-аллеле, что и таргетный пептид. Выбранные собственные пептиды и масштаб исследования необходимо обосновать. Более того, необходимо изучить, имеет ли таргетный пептид общность с другими гомологичными или аналогичными белками.

132. Если TCR обладает определенной вероятностью перекрестного реагирования, необходимо определить минимальный распознаваемый мотив таргетного пептида и использовать его для анализов *in silico*, оценивающих перекрестную реактивность. Если потенциальные перекрестно реагирующие пептиды были выявлены *in silico*, клетки, экспрессирующие соответствующий белок и (или) представляющие потенциально перекрестно реагирующий пептид, необходимо

проанализировать на предмет распознавания иммунными клетками с модифицированным TCR. Если перекрестную реактивность исключить невозможно, необходимо выполнить оценку риска на основании профиля экспрессии белка, соответствующего потенциально перекрестно реагирующему пептиду, и аффинности TCR в отношении потенциально перекрестно реагирующего пептида.

133. Чтобы получить сведения о потенциальной перекрестной реактивности TCR с другими HLA-аллелями, необходимо провести скрининг на HLA-аллореактивность.

134. В случае Т-клеток с модифицированным TCR необходимо рассмотреть потенциальное ошибочное соединение внедренных цепей TCR и эндогенных TCR. Необходимо описать и обосновать стратегии дизайна внедряемых цепей TCR, чтобы снизить потенциал ошибочного соединения.

10.3.2. Лекарственные препараты на основе клеток, получаемые из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

135. Риск инсерционного мутагенеза, онкогенности и туморогенности, обусловленный терапевтическим использованием производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, связан с использованием интегрирующих вирусных векторов и индуцированной плюрипотентностью. Вопросы, относящиеся к риску инсерционного мутагенеза, обусловленного интеграцией в геном клеток вирусных векторов, рассмотрены в пунктах 120 – 123 настоящей главы.

136. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки относятся к типу клеток, обладающих высоким риском развития туморогенности, поскольку они могут образовывать тератомы *in vivo*. Необходимо использовать современные методы контроля процесса производства и стратегий доклинических исследований для оценки риска развития туморогенности, обусловленного плюрипотентностью клеток.

137. Доклиническая квалификация содержания примесей недифференцированных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток выполняется в исследованиях *in vivo*, например, путем добавления в вводимый клеточный продукт недифференцированных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в разных количествах. Риск опухолевого потенциала допускается также оценить в долгосрочных исследованиях токсичности. Риск туморогенеза можно снизить с помощью включения в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках механизма запрограммированной гибели клеток, функциональность которого необходимо подтвердить в исследованиях *in vivo*.

138. Перепрограммирование (через стадию плюрипотентной стволовой клетки или транс-дифференцировку) может вызвать эпигенетические изменения в клетках с последствиями, которые не полностью изучены.

139. Чтобы оценить потенциальные аномальные особенности, вызванные эпигенетическими изменениями клеток, получаемых из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, необходимо получить *in vitro*- и (или) *in vivo*- результаты доклинических исследований, чтобы продемонстрировать соответствующее поведение и физиологическую функцию клеток, которые будут вводиться человеку.

Исследования токсичности должны включать оценку любых неблагоприятных эффектов, вызванных аномальным поведением введенных клеток. Комбинация данных об установлении характеристик качества, данных доклинической безопасности и научных медицинских данных должна позволить получить детальную оценку риска и обсуждение мер ослабления риска, чтобы защитить пациентов. Если наблюдаются изменения генетических и (или) эпигенетических профилей производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, заявитель обязан оценить потенциальные связанные с этим вопросы безопасности.

10.3.3. Лекарственные препараты на основе клеток, полученных в результате редактирования генома

140. Помимо общих требований к генетически модифицированным клеткам, в случае клеток с отредактированным геномом необходимо рассмотреть следующие аспекты: специфичность активности модифицирующего фермента или гидовой РНК (gRNA) в отношении геномной последовательности – мишени необходимо подтвердить *in vitro* при помощи оценки целевого и нецелевого редактирования в соответствующих клетках. Тогда как предположение потенциальной нецелевой активности может включать анализы *in silico*, выбранная стратегия для оценки нецелевой активности должна также включать объективную оценку нецелевой активности в масштабах всего генома *in vitro*. Тем самым необходимо обосновать выбранную стратегию и указать чувствительность используемых методов. Результаты доклинических исследований нецелевой активности необходимо тщательно оценить в отношении, к примеру, видоспецифичных различий,

различий в патофизиологическом состоянии клеток или различий в клеточных типах. Необходимо проанализировать влияние редактирования генома на фенотип и физиологические функции клеток, если применимо.

141. Необходимо тщательно выбирать релевантную животную модель для испытания на токсичность. Выбранная животная модель и продолжительность исследований токсичности должны позволить оценить последствия нецелевой токсичности и потенциальную иммуногенность в отношении клеток с редактированным геномом. В случае недоступности релевантной животной модели можно рассмотреть соответствующие модели оценки *in vitro*.

11. Клиническая разработка

11.1. Общие вопросы

142. В настоящем разделе рассматриваются предрегистрационные исследования, нацеленные на оценку безопасности и эффективности генетически модифицированных клеток. Последние включают лекарственные препараты на основе генетически модифицированных Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-Т-клетки) или Т-клеточным рецептором (TCR), а также генетически модифицированные CD34-положительные клетки, разрабатываемые для лечения генетического заболевания (например, тяжелые иммунодефициты, липосомальные болезни накопления и гемоглобинопатии), но не ограничиваются ими. На сегодняшний день клинические данные для обоснования специфичных клинических указаний в отношении клеток с редактированными *ex vivo* генами или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

считаются недостаточными. Тем не менее, применяются общие принципы с точки зрения оценки соотношения «польза – риск» на основании вопросов качества и доклинических данных, туморогенности, целевого показания, популяции пациентов и неудовлетворенной медицинской потребности.

143. Клинические исследования необходимо планировать так, чтобы можно было оценить соотношение «польза – риск» на основании специфических характеристик продукта (трансдуцированные клетки), целевой популяции (в индивидуальном порядке) и существующих терапевтических методах лечения. Поскольку для планирования клинических исследований этой группы лекарственных препаратов применяются те же принципы, что и в отношении других лекарственных препаратов с точки зрения характеристики их фармакодинамики, фармакокинетики, безопасности и эффективности, необходимо учитывать при планировании исследований отличительные признаки лекарственных препаратов на основе генетически модифицированных клеток. Эти отличительные признаки включают в себя:

а) сложность состава препаратов, характеристики препарата и вопросов производства (например, трудности при сборе исходного материала и обращения с ним), различия между аллогенным и аутологичным происхождением клеток;

б) ограничения в отношении экстраполяции данных, полученных на животных (отсутствие релевантной животной модели, проблемы в оценке начальной дозы, различия в биораспределении, иммуногенности, иммуноопосредованная токсичность, целевые и нецелевые эффекты);

в) неопределенность относительно частоты, продолжительности и природы нежелательных реакций, персистенции этих реакций у людей;

г) неопределенность относительно частоты, продолжительности и природы иммуногенности для человека, влияния этой иммуногенности на долгосрочную безопасность и эффективность, а также неопределенность относительно использования повторной дозы;

д) неопределенность относительно риска злокачественной трансформации (например, в случае интегрирующегося вектора), туморогенности;

е) необходимость долгосрочного наблюдения за эффективностью и безопасностью на основании пролонгированной биологической активности и (или) персистенции модифицированных клеток;

ж) особенности процедуры введения или доставки в орган-мишень;

з) особенности процедуры применения (например, аферез и заготовка костного мозга), сопутствующей терапии на фоне применения лекарственного препарата (например мобилизация CD34⁺-стволовых клеток и миелоаблативная и (или) лимфодеплетирующая химиотерапия).

144. Указанные отличительные особенности оказывают влияние на дизайн исследования, выбор дозы, фармакодинамику, фармакокинетику (биораспределение), тогда как общие принципы в исследованиях поздних фаз для подтверждения эффективности и безопасности в определенной терапевтической области затрагиваются меньше и по существу совпадают с таковыми для других лекарственных препаратов.

145. Имеется вероятность возникновения необходимости определить, исходя из имеющихся возможностей, насколько наблюдаемый клинический эффект обусловлен именно продуктом гена,

трансдуцированными клетками или ими обоими. Эти сведения должны обосновывать режим дозирования (дозу и частоту применения), а также устанавливать методы анализа и спецификацию для контроля качества (например, испытание на подлинность).

146. Доставка генетически модифицированных клеток к органу- и ткани-мишени будет требовать внутривенного, интрадермального введения или введения при помощи специальных хирургических процедур, чтобы добиться планируемого терапевтического эффекта. Необходимо изучить терапевтическую процедуру как единое целое, включая процедуры сбора (например, аферез, аспирация костного мозга), миелоаблативный и (или) лимфодеплетирующий режим, способ введения и, в конечном счете, требуемые сопутствующие лекарственные препараты, например, иммуносупрессивные режимы, при рассмотрении соотношения «польза – риск». Это необходимо принимать во внимание в дизайне клинических исследований, например, с точки зрения определения времени рандомизации и популяции «пациентов, получивших препарат» (intention to treat, ITT-популяция).

11.2. Исследования подбора дозы лекарственных препаратов

147. Доза данной группы лекарственных препаратов определяется числом генетически модифицированных клеток на килограмм массы тела (кг) или единицу площади поверхности тела пациента (m^2). Допускается определение дозы как абсолютной величины вводимого числа генетически модифицированных клеток.

148. Цель выбора стартовой дозы заключается в определении дозы, которая будет обладать фармакологическим эффектом и будет безопасной

для применения. После оценки безопасной и минимальной эффективной дозы необходимо проводить дальнейшие исследования по поиску доз. Если обоснованно, необходимо оценить максимальную переносимую дозу, например, при наличии показаний к применению у этих лекарственных препаратов в онкологии и (или) гематологии. Кроме того, необходимо оценить корреляцию между экспозицией и эффектом с целью установления диапазона эффективных доз и рекомендуемой дозы для оценки в дальнейших клинических исследованиях (поздних фаз).

149. Выбор стартовой дозы может быть затруднен неопределенностями, обусловленными релевантностью доклинических исследований *in vivo*, так как видоспецифичные различия в приживлении, дифференцировке, персистенции и иммуногенности могут ограничивать предиктивную ценность исследований доклинической фармакодинамики, фармакокинетики, токсичности и поиска доз.

150. В подобных случаях (например в отношении CD34-положительных генетически модифицированных клеток), принимается, что основанием для выбора стартовой дозы и (или) диапазона доз является вся совокупность релевантных данных, например:

а) доклинические данные, полученные в отношении продукта;

б) клинические данные, включая:

данные, полученные в отношении родственных лекарственных препаратов;

клинический опыт в отношении трансплантации клеток.

151. При выборе режима введения следует учитывать, что требуется минимальная доза, чтобы обеспечить приживление и избежать долгосрочного угнетения костного мозга.

Необходимо при выборе доз учитывать также такие пациент-специфичные показатели, как разновидность и этиология заболевания, генетический фон, возраст, пол, предыдущее лечение и опухолевую нагрузку в случае онкологических показаний.

152. При определении стартовой дозы и диапазона доз необходимо учитывать также препарат-специфичные показатели, которые значимы для ожидаемого клинического эффекта. Они включают тип и происхождение (аутологичное или аллогенное) клеток, эффективность трансдукции, число трансдуцированных клеток по отношению к нетрансдуцированным, среднее число копий вектора на клетку и жизнеспособность клеток, биологическую активность, тип ко-стимулирующей молекулы и экспрессию трансгена.

153. Как и в случае с трансплантацией костного мозга, при наличии вариабельности количества собранных аутологичных клеток и (или) объемов получаемого в процессе производства лекарственного препарата, допускается введение диапазонов доз клеток выше запланированной минимальной дозы.

154. Необходимо изучить зависимость между числом копий вектора и долей приживленных трансдуцированных клеток с заданным числом копий вектора *in vivo*, экспрессией трансгена и клиническими данными, чтобы определить их безопасный и эффективный диапазон.

155. К высокотехнологичным лекарственным препаратам применимы стратегии выявления и ослабления рисков исследуемых лекарственных препаратов впервые проводимых у человека и ранних клинических исследований. Они включают в себя обеспечение достаточного периода времени между назначением терапии высокотехнологичным

лекарственным препаратом первому и последующим пациентам, для того, чтобы можно было провести оценку острой токсичности, и выполнить приостановку клинического исследования или прекращение дальнейшего привлечения в исследование пациентов в соответствии с Правилами надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза.

11.3. Фармакодинамика

156. Целью клинических исследований ранних фаз также является оценка фармакодинамической активности лекарственного препарата. В отношении генетически модифицированных клеток оценка фармакодинамики лекарственного препарата включает в себя например:

приживление клеток, оценку количества клеток-мишеней и выработку фармакологически активных количеств целевого белка (фермента);

оценку иммунных эффекторных механизмов, содержание цитокинов и уничтожение опухолевых клеток в отношении CAR-T-клеток.

157. Необходимо отслеживать продолжительность фармакодинамического эффекта.

158. Другие релевантные фармакодинамические маркеры необходимо выбирать в индивидуальном порядке в зависимости от показателей, специфичных как для лекарственного препарата так и заболевания. Необходимо использовать подходящие и актуальные биоаналитические методы.

11.4. Фармакокинетика

159. Стандартные исследования абсорбции, распределения, метаболизма и выведения обычно не применимы для соматотерапевтических лекарственных препаратов. Однако, для генетически модифицированных клеток необходимо оценить кинетику, биораспределение и персистенцию, а также уровень выработки трансгена в целевых и нецелевых тканях.

160. Применяются разные принципы оценки фармакокинетики и биораспределения к разным видам лекарственных препаратов на основе генетически модифицированных клеток, например, для лекарственных препаратов на основе CAR-T-клеток требуется вся трансдуцированная клетка (CAR-T-клетка), чтобы оказать терапевтическое действие, и поэтому она должна быть основной мишенью фармакокинетического анализа. Для генетически модифицированных клеток, предназначенных для доставки функционального фермента, мишень фармакокинетического анализа должна включать в себя целевой фермент.

161. Необходимо также обеспечить мониторинг жизнеспособности, пролиферации и дифференцировки, распределения и миграции по организму и *in vivo*-функциональности генетически модифицированных клеток в клинически значимые временные точки в период исследования и в течение достаточной продолжительности по его завершении. В этой связи необходимо проанализировать пригодность для этих целей используемой методологии мониторинга данных и ее ограничения.

162. В случае если первичным эффектом или механизмом действия является экспрессия белка из трансгена, необходимо оценить фармакокинетические свойства экспрессируемого белка. Для этого

необходимо учитывать особенности изучения фармакокинетики терапевтических белков в клинических условиях.

11.5. Иммуногенность

163. Иммунный ответ на клетки и (или) продукт экспрессии трансгена может компрометировать эффективность и оказывать влияние на безопасность, даже при однократном введении лекарственного препарата. Таким образом, на протяжении разработки необходимо проводить испытания на иммуногенность.

164. Оценка иммуногенности должна учитывать клинически значимый иммунный ответ на продукт экспрессии трансгена и (или) трансдуцированные клетки. На риск иммуногенности влияют происхождение трансдуцированных клеток (аллогенное или аутологичное), природа заболевания (иммунодефицитная или иммунокомпетентная популяция пациентов, полное отсутствие или дефектный продукт гена), вид режима кондиционирования, существующий у пациента иммунный ответ на продукт экспрессии трансгена, а также место секреции продукта экспрессии трансгена (внутриклеточно или внеклеточно).

11.6. Клиническая эффективность

165. Дизайн и продолжительность исследования должны основываться на существующих подходах к изучению лекарственных препаратов, применяемых в конкретной терапевтической области. Любое

существенное отклонение (отклонения) от указанных подходов необходимо объяснить и обсудить.

166. Клинические исследования необходимо планировать так, чтобы установить эффективность на основании клинически значимых исходов. Вся совокупность доказательств, включая приживление или персистенцию трансдуцированных клеток, уровень экспрессии продукта гена и (или) степень активности продукта гена, а также связанная клиническая конечная точка и зависимость между этими факторами еще больше укрепляют доказательство в отношении эффективности. Программу клинической разработки необходимо планировать так, чтобы оценить продолжительность терапевтического эффекта лекарственного препарата. Если предусматриваются несколько введений, их схему также необходимо обсудить в свете фармакокинетических свойств продукта экспрессии трансгена, а также клеточного типа, если применимо (например, генетически модифицированные клетки для иммунотерапии рака).

167. В опорных клинических исследованиях лекарственных препаратов на основе аутологичных генетически модифицированных клеток для оценки соотношения «польза – риск», все пациенты, которые были включены с намерением инициировать лечение, например те, кто был распределен по группам в рандомизированном клиническом исследовании или подписал информированное согласие в одностороннем исследовании, должны быть включены в первичный анализ эффективности. Могут быть предусмотрены вспомогательные анализы, например, в отношении аферезной популяции, популяции с применением лимфодеплетирующей терапии или популяции пациентов, подвергающейся кондиционированию перед применением препарата или

инфузией, и популяции после применения препарата или инфузии, если обосновано.

168. В определенных случаях и в совокупности с фармакологическим действием лекарственного препарата клиническая эффективность оценивается после значительного по продолжительности периода после его применения (например, если требуется приживление ткани). Установление полезных клинических эффектов на момент регистрации лекарственного препарата должно быть основано на анализе параметров клинически значимого исхода и подкрепляться результатами анализа значимых фармакодинамических параметров. В исключительном случае, когда суррогатная конечная точка выбирается в качестве косвенной меры клинической пользы (например, если клиническая польза может быть оценена только спустя несколько лет последующего наблюдения), необходимо проанализировать пригодность суррогатной конечной точки (например, в ходе научного консультирования или получения заключения о квалификации суррогатной конечной точки) и обосновать ее способность устанавливать или предсказывать клиническую пользу. Заявитель обязан проанализировать и указать степень определенности, с которой суррогатная конечная точка позволяет предсказать клиническую пользу, а также указать почему любая остающаяся неопределенность будет приемлема. Если планируемый исход терапии заключается в долгосрочной персистенции и функциональности генетически модифицированных клеток или продукта экспрессии трансгена, это необходимо отразить при помощи достаточной продолжительности наблюдения в клиническом исследовании и последующего наблюдения. Дизайн и продолжительность последующего наблюдения необходимо

установить в протоколе исследования, последнее может быть завершено после регистрации.

11.7. Клиническая безопасность

169. База данных по безопасности должна быть достаточно емкой, чтобы обнаружить значимые краткосрочные и среднесрочные нежелательные явления, которые могут быть связаны с использованием и (или) процедурой применения генетически модифицированных клеток, и создать условия для полноценной оценки соотношения «польза – риск».

170. Необходимо принимать во внимание риск терапевтической процедуры в целом, включая:

риск, связанный с заготовкой клеток;

риск процедур введения;

риск осуществления любой необходимой сопутствующей терапии (например использование иммуносупрессивной терапии) или предварительного кондиционирования клеток.

171. Как и в случае с любым другим биологическим лекарственным препаратом, существует риск инфицирования неизвестными посторонними агентами, поэтому пациентов необходимо наблюдать на предмет наличия признаков инфекций.

172. Необходимо изучить возможность того, что трансдуцированные клетки могут выделить вектор или плазмиду *in vivo*. Дизайн и масштаб подобных исследований должен зависеть от свойств конструкции и исхода доклинических исследований.

173. Риск отсроченных нежелательных реакций и снижения эффективности генетически модифицированных клеток связан с

фактическим профилем риска вектора, используемого для генетической модификации клетки, природой продукта гена, продолжительностью персистенции модифицированных клеток, биораспределением и потенциальными эффектами для органов. В связи с возможной пожизненной персистенцией генетической модификации стволовых клеток или клеток-предшественников необходимо рассмотреть особый риск отсроченных эффектов, связанных с интеграцией вектора и продуктами его экспрессии (например, онкогенез, иммуногенность или реактивация вектора).

174. Если дополнительные сведения, важные для оценки риска, становятся доступны во время клинических исследований или после регистрации, заявитель обязан изменить стратегию риска и внедрить ее в пересмотренный план последующего клинического наблюдения.

11.8. Последующее клиническое наблюдение

175. Необходимо обеспечить последующее клиническое наблюдение за пациентами, включенными в клиническое исследование генетически модифицированных клеток, чтобы обнаружить ранние или отсроченные нежелательные реакции, изменение в профиле эффективности или дополнительные неисследованные риски продуктов генетически модифицированных клеток. Последующее клиническое наблюдение должно учитывать существующие доклинические и клинические сведения, полученные в отношении изучаемого генотерапевтического лекарственного препарата. Опыт в отношении других схожих лекарственных препаратов на основе генетически модифицированных клеток или соматотерапевтических лекарственных препаратов либо

продукта экспрессии трансгена необходимо внимательно рассматривать на предмет его релевантности для изучаемого лекарственного препарата. В соответствии с существующим уровнем знаний последующее наблюдение следует проводить в течение 15 лет.

176. Если есть риск позднего начала нежелательного явления (например, развитие лейкоза или других вторичных опухолей, а также туморогенез), необходимо предусмотреть меры для работы с риском.

12. Фармаконадзор

177. Генетически модифицированные клетки требуют проведения специальных долгосрочных исследований для мониторинга вопросов безопасности, включая отсутствие эффективности и риск диссеминации или реактивации вектора.

178. В план управления рисками необходимо включить вопросы оценки долгосрочной безопасности, такие как риск возникновения инфекции, иммуногенности или иммуносупрессии и злокачественной трансформации клеток, а также оценки долговечности медицинского изделия или биоматериала, входящих в состав лекарственного препарата. Допускается планирование специальных фармакоэпидемиологических исследований, в зависимости от типа вектора и биологических характеристик трансдуцированных клеток.

13. Оценка экологических рисков

179. Клетки человека не могут пролиферировать в окружающей среде, поскольку они способны выживать только в организме человека или

условиях культивирования *in vitro*. В отношении генетически модифицированных клеток человека риски для окружающей среды в целом считаются ничтожно низкими. В отношении любых остающихся вирусных частиц любой потенциальный риск будет на стороне реципиента препарата, и он обычно изучается в рамках проведения оценки качества, доклинических и клинических исследованиях. В связи с этим риски для окружающей среды для данных лекарственных препаратов можно, как правило, считать ничтожно низкими.

180. Поскольку имеются технические трудности в подтверждении полного отсутствия инфекционных вирусных частиц в готовом продукте, заявителям допускается обосновать отсутствие инфекционных вирусных частиц при помощи теоретических расчетов или, в виде альтернативного подхода – обосновать, что присутствие любых остаточных инфекционных вирусных частиц в готовом продукте не будет превышать минимальные риски для окружающей среды, принимая во внимание, любые меры по минимизации риска.

ПРИЛОЖЕНИЕ

к главе 32 Правил проведения
исследований биологических
лекарственных средств Евразийского
экономического союза

УКАЗАНИЯ

по специфическим аспектам клинической разработки
CAR-T-клеток

В настоящем приложении приведены общие указания к клинической разработке CAR-T-клеток. Настоящее Приложение необходимо рассматривать как ориентировочный перечень указаний к объему клинической разработки данного вида лекарственных препаратов.

Фармакокинетика, фармакодинамика
и исследования подбора доз

Фармакокинетика CAR-T-клеток, оцениваемая в рамках поисковых клинических исследований должна характеризовать кинетику клеток, включая содержание CAR-T-клеток, а также их экспансию и персистенцию в крови и целевых тканях в релевантные временные точки. Оценка кинетики клеток *in vivo* должна включать такие значимые параметры, как $AUC_{д28}$, C_{max} , T_{max} и $T_{1/2}$ с использованием соответствующих биоаналитических методов, например, количественную ПЦР для количественного определения CAR-специфичного трансгена и проточную цитометрию для количественного определения CAR-T-клеток в крови и других целевых тканях. Стандартные исследования лекарственных

взаимодействий и токсикологические исследования при почечной и печеночной недостаточности менее применимы к CAR-T-клеткам и требуют рассмотрения в индивидуальном порядке. Вместе с тем влияние определенных сопутствующих терапий может требовать оценки в свете их потенциального влияния на фармакокинетику и фармакодинамику CAR-T-клеток.

Допускается применять поиск доз на основе знаний о родственных лекарственных препаратах. Вместе с тем такие специфичные для CAR-T-клеток факторы, как домены антигенспецифичного связывания и костимулирующие домены, влияют на токсичность и эффективность, что может ограничивать потенциал для экстраполяции эффективных дозы или диапазона доз с клинических данных, полученных в отношении других CAR-T-клеток. В связи с этим исследования поиска доз необходимо проводить для изучения безопасности, токсичности, противоопухолевой активности в разных дозах, чтобы определить пороговую дозу, требуемую для противоопухолевого действия, и рекомендуемые дозу или диапазон доз для клинических исследований фазы II.

В целом необходимо получить данные для обоснования режима дозирования, который будет использоваться в подтверждающих исследованиях, учитывая

- 1) доклинические данные и доступные клинические данные,
- 2) продукт-специфичные факторы (эффективность трансдукции, пролиферативная активность);
- 3) болезнь-специфичные критерии (тип опухоли, экспрессия антигена и опухолевая нагрузка).

Эффективность

В отношении CAR-T-клеток применяются те же базовые принципы подтверждения эффективности, что и к другим противоопухолевым лекарственным препаратам. Подтверждающие клинические исследования фазы III и расширенная база данных по безопасности должны быть нацелены на установление соотношения «польза – риск» препарата в четко определенной группе пациентов на основании валидных первичных конечных точек, рандомизированного контролируемого дизайна и всесторонней базы данных безопасности. По общему правилу необходимо следовать клиническим указаниям в отношении клинической оценки противоопухолевых лекарственных препаратов.

Ожидается, что такой специфичный для CAR-T-клеток аспект, как выбор дозы, будет основываться на результатах поисковых исследований. Если в подтверждающих исследованиях применяется диапазон доз, а не фиксированная доза CAR-T-клеток, это необходимо хорошо обосновать исходя из источника клеток (аллогенный или аутологичный), особенностей препарата и выбранной популяции пациентов.

Дизайн подтверждающего исследования должен соответствовать рандомизированному контролируемому дизайну со сравнением применения CAR-T-клеток с референтным режимом, если иное научно не обосновано. Для лимфомы высокой степени злокачественности таким референтным режимом может, к примеру, быть высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией аутологичных стволовых клеток. При планировании подтверждающих исследований необходимо внимательно подходить к соблюдению принципа «по намерению лечить

(intention to treat)» при оценке эффективности и к определению ИТТ-популяции как всех включенных пациентов и в группе CAR-T-клеток, и в группе компаратора. Можно предусмотреть дополнительные анализы в подгруппах группы CAR-T-клеток, например в аферезной популяции, популяции, получавшей лимфодеплетирующую терапию и популяции, получившей препарат CAR-T-клеток.

Как правило, первые клинические исследования препаратов CAR-T проводятся для пациентов, находящихся на поздней стадии заболевания или при рефрактерном течении заболевания. Рефрактерное течение заболевания клинически очень отличается от раннего заболевания, что в некоторых случаях может обосновывать другие требования с точки зрения уровня доказательств для регистрации препарата. Дизайн рандомизированного контролируемого клинического исследования используется также в тех случаях, когда выбираются условия поздней стадии заболевания с рефрактерным течением или если референтные терапии не доступны. В подобных случаях сравнение с наилучшей поддерживающей терапией или лечением на основании выбора исследователя позволяет получить доказательство эффективности и является предпочтительным в сравнении с одnogрупповыми исследованиями. В исключительных случаях и при наличии научного обоснования для целей регистрации лекарственного препарата допускается представлять результаты неконтролируемых клинических исследований, выполненных с участием одной группы пациентов. В подобных случаях необходимо представить доказательства, что эффект от терапии таким лекарственным препаратом является высоко достоверным, а обычное течение заболевания – хорошо предсказуемым.

Подобно другим противоопухолевым препаратам, приемлемыми конечными точками в подтверждающих клинических исследованиях являются:

выживаемость без рецидива заболевания (выживаемость без событий) (Disease-free survival (event-free survival), DFS (EFS));

выживаемость без прогрессирования заболевания (Progression free survival, PFS);

общая выживаемость (Overall survival, OS).

В условиях поискового клинического исследования приемлемыми конечными точками считаются:

объективная частота ответов на лечение (Objective response rate, ORR);

продолжительность ответа на терапию.

Долгосрочные исходы терапии CAR-T-клетками требуют отдельного установления, даже если в клинических исследованиях ранних фаз имелись сообщения о стойких долгосрочных ответах у отдельных пациентов. Если имеются научные предположения относительно того, что данная терапия способна обеспечить полное излечение исходя из природы лекарственного препарата, необходимо запланировать соответствующий дизайн клинических исследований с оценкой данного вида эффективности для целей регистрации лекарственного препарата. В настоящее время не имеется достаточных данных для формирования стандартных указаний по проведению трансплантации аутологичных (кроветворных) стволовых клеток (ASCT/HSCT) после лечения препаратами CAR-T-клеток при гемобластозах.

Безопасность

CAR-T-клетки вызывают острую токсичность, которая связана с их фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами, что приводит к ограниченному терапевтическому применению. Основные нежелательные реакции, описанные в настоящее время, основаны на опыте применения направленных на CD19 CAR-T-клеток у пациентов с лейкозом и лимфомой и проявляются в виде:

- синдрома «цитокинового шторма»;

- синдрома энцефалопатии опосредованного CAR-T-клетками (CAR-T-cell related encephalopathy syndrome, CRES);

- истощения В-клеток.

Вид и тяжесть нежелательных реакций варьируют в зависимости от характеристик лекарственного препарата и состояния пациента для разных CAR-T-клеток, нацеленных на CD19. Более широкий спектр нежелательных явлений характерен для CAR-T-клеток, направленных на другие антигены и (или) другие гемобластозы или опухоли.

Нежелательные явления могут быть связаны с первоначальным онкологическим заболеванием, с режимом лимфодеплеции, таким как миелосупрессия, инфекциями, или с процедурой афереза. Таким образом, необходимо оценить причинно-следственную связь нежелательных явлений с процедурами, сопровождающими терапию CAR-T-клетками, а также с самим препаратом CAR-T-клеток.

Для получения качественных и информативных данных о безопасности, необходимо:

а) сформулировать возможный перечень ожидаемых и непредвиденных нежелательных явлений на основании доклинических данных, полученных в отношении лекарственных препаратов, а также клинического опыта применения других CAR-T-клеток,

б) спланировать продолжительность госпитализации пациентов с учетом ожидаемых серьезных нежелательных явлений;

в) разработать алгоритм обнаружения и лечения потенциально жизнеугрожающей токсичности;

г) спланировать продолжительность исследований и наблюдения за пациентами для обнаружения отсроченной токсичности.

Необходимо запланировать формирование подробной базы данных, которая позволит полностью охарактеризовать лекарственные препараты на основе CAR-T-клеток, а также связанные с процедурами нежелательные явления (включая аферез и лимфодеплецию) и обосновать полную оценку соотношения «польза – риск» для целей регистрации.».
