



ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздрава России



Рекомендации по доклиническому изучению генотерапевтических лекарственных средств

Енгальчева Галина Нинелевна, главный эксперт управления
№ 2 по эффективности и безопасности лекарственных средств
Сюбаев Рашид Даутович, зам начальника управления №2

29 июня 2023

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Генотерапевтические лекарственные препараты

Генотерапевтические лекарственные препараты относятся к биологическим препаратам

Фармацевтическая субстанция является

- рекомбинантной нуклеиновой кислотой
- или включает в себя рекомбинантную нуклеиновую кислоту,

позволяющую осуществлять

- регулирование
- репарацию
- замену
- добавление
- удаление генетической последовательности

Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ (ред. от 28.04.2023) "Об обращении лекарственных средств"

Генотерапевтический лекарственный препарат – это биологический препарат

содержащий активное вещество, содержащее рекомбинантную нуклеиновую кислоту или состоящее из нее, используемую или вводимую человеку с целью регулирования, восстановления, замены, добавления или удаления генетической последовательности;

- терапевтический, профилактический или диагностический эффекты которого напрямую обусловлены:
 - последовательностью рекомбинантной нуклеиновой кислоты, которую он содержит,
 - или с продуктом генетической экспрессии этой последовательности

Высокотехнологические лекарственные препараты

согласно актам органов Союза, включают в себя

- генотерапевтические лекарственные препараты
- лекарственные препараты на основе соматических клеток
- препараты тканевой инженерии

17.2.2. Лекарственные препараты на основе соматических клеток

Высокотехнологический лекарственный препарат, который может подпадать под определение лекарственного препарата на основе соматических клеток или определение препарата тканевой инженерии и генотерапевтического лекарственного препарата,

- должен рассматриваться в качестве генотерапевтического лекарственного препарата

17.3.4. Специальные требования к высокотехнологическим лекарственным препаратам, содержащим медицинские изделия

К клеточной или тканевой части комбинированного высокотехнологического лекарственного препарата предъявляются специальные требования к соматотерапевтическим лекарственным препаратам и препаратам тканевой инженерии

если клетки подвергались генетической модификации, предъявляются специальные требования к генотерапевтическим лекарственным препаратам

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ

Генотерапевтические лекарственные препараты

Доклинические исследования

17.4.2. Особые требования к генотерапевтическим лекарственным препаратам

Для определения объема и видов доклинических исследований, необходимых для надлежащего описания доклинической безопасности, следует учитывать дизайн и вид генотерапевтического лекарственного препарата

17.4.2. Особые требования к генотерапевтическим лекарственным препаратам – ТОКСИКОЛОГИЯ

Необходимо изучить токсичность готового генотерапевтического лекарственного препарата.

В зависимости от вида лекарственного препарата необходимо провести отдельное испытание фармацевтической субстанции и вспомогательных веществ, учитывая *in vivo* эффект продуктов экспрессии последовательности нуклеиновой кислоты, не предназначенных для оценки их физиологической функции

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 23.09.2022) "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения"

17.4.2. Особые требования к генотерапевтическим лекарственным препаратам – ТОКСИКОЛОГИЯ

- В зависимости от персистенции генотерапевтического лекарственного препарата и ожидаемых потенциальных рисков продолжительность исследований может превышать стандартные токсикологические исследования
- Необходимо представить обоснование длительности исследований

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 23.09.2022) "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения"

Дополнительные токсикологические исследования

Исследования интеграции

- В отношении всех генотерапевтических лекарственных препаратов необходимо представить результаты исследований их интеграции, если отсутствие таких результатов научно не обосновано, например, вследствие отсутствия проникновения последовательностей нуклеиновой кислоты в ядро клетки
- Если по результатам исследований биораспределения обнаруживается риск генеративной передачи, в отношении генотерапевтических лекарственных препаратов, предположительно, не способных к интеграции, необходимо провести исследования интеграции

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 23.09.2022) "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения"

ОСНОВНЫЕ РИСКИ

Генотерапевтические лекарственные препараты

Специальные требования к документам регистрационного досье (1 из 2)

IV. Высокотехнологичные лекарственные препараты

Ввиду специфической природы высокотехнологических лекарственных препаратов может применяться подход, основанный на анализе риска для определения:

- объема необходимых сведений
- требований к качеству,
- доклиническому
- клиническому изучению

*Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78
(ред. от 23.09.2022) "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных
средств для медицинского применения"*

Специальные требования к документам регистрационного досье (2 из 2)

Анализ рисков может включать в себя всю разработку

- природа генотерапевтического лекарственного препарата
- способность к репликации вирусов или размножению микроорганизмов используемых *in vivo*
- степень интеграции последовательностей нуклеиновых кислот или генов в геном
- продолжительность функционирования (существования)
- риск онкогенности
- способ введения или использования

*Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78
(ред. от 23.09.2022) "О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных
средств для медицинского применения"*

Потенциальные риски генной терапии (1 из 2)

Риски	Стратегия снижения риска
Подавление гена – репрессия промотора	Применение эндогенных клеточных промоторов, исключение регуляторных последовательностей вирусного происхождения
Генотоксичность – осложнения, связанные с инсерционным мутагенезом	Применение векторных систем с более безопасным профилем интеграции (напр., само-инактивирующиеся лентивирусные векторы) Интеграция, специфичная для конкретной последовательности (редактирование генома)
Фенотоксичность – осложнения, связанные с избыточной экспрессией или экспрессией трансгена в неверном регионе генома	Контроль экспрессии трансгена в пространстве (например, эндогенные, тканеспецифичные промоторы) и времени (вкл/выкл)

Потенциальные риски генной терапии (2 из 2)

Риски	Стратегия снижения риска
Иммунотоксичность – опасный иммунный ответ на вектор или трансген	Тщательный контроль реактивности Т-клеток к вектору и трансгену , использование при необходимости иммуносупрессии
Риск горизонтальной передачи - выделение инфекционного вектора в окружающую среду	Контроль выделения вектора в доклинических моделях при разработке новых векторов
Риск вертикальной передачи – внедрение донорской ДНК в клетки зародышевой линии	Использование методов барьерной контрацепции, пока выделение вируса не прекратится

Девять категорий риска (1 из 3)

Риски	Описание
(Epi-) genetic instability (Эпи-) генетическая нестабильность	Потенциальная потеря функции трансгена в результате генетической нестабильности или снижения регуляции экспрессии
Инсерционный мутагенез	Нежелательная дерегуляция или нарушение работы клеточных генов в результате нецелевого внедрения трансгена в клеточную хромосомную ДНК, потенциально вызывающее клональный дисбаланс или злокачественную трансформацию.
Carrier genotoxicity	Повреждения ДНК, такие как разрывы цепей ДНК, хромосомная нестабильность, дупликация ДНК или транслокация из-за процедур трансфекции, используемых для переноса нуклеиновых кислот, или из-за ДНК-модифицирующих ферментов, используемых для генной инженерии клеток-мишеней

Девять категорий риска (2 из 3)

Риски	Описание
Phenotoxicity	Нежелательные эффекты, связанные с избыточной экспрессией или экспрессией трансгена в неверном регионе генома
Transgene product immunotoxicity	Нежелательные иммунные реакции против трансгенного продукта, например, нейтрализация терапевтических белков, делеция генно-модифицированных клеток или аутоиммунитет
Carrier immuno-toxicity	Нежелательные эффекты иммунных реакций на компоненты лекарственного средства, отличные от трансгенного продукта.

Девять категорий риска (3 из 3)

Риски	Описание
Carrier toxicity (non-immunogenic)	Все неиммунно-опосредованные и негенотоксические эффекты лекарственного средства, отличные от трансгенного продукта, включая все компоненты введения лекарственного средства (например, внутривенная стереотаксическая нейрохирургия).
Horizontal transmission	Вектор распространяется (например, распространение вирусов) информация жидкостях организма, таких как сыворотка, моча, и сперма распространения инфекционных генетическая информация в окружающую среду
Germline transmission Наследственная передача	Особый случай горизонтальной передачи трансгена в половые клетки или – в худшем случае – вертикальной передачи человеческому потомству, несущему трансгеновые последовательности во всех ядродержащих клетках организма

Потенциальные риски генной терапии

Мнение опрошенных экспертов:

Адекватная оценка соотношения польза-риск проводится в каждом конкретном случае с учетом информации о пациенте (заболевание для терапии которого разрабатывается продукт, возраст, сопутствующие заболевания)

Программа доклинических исследований безопасности генотерапевтических препаратов

Для обоснования программы применяют подход основанный на анализе рисков с учетом природы препарата (рекомендуется включать в досье)

Также учитывают отдаленные риски*:

- Нецелевая интеграция
- Нежелательные мутации, онкогенный потенциал
- Передача по зародышевой линии
- Опасность для окружающей среды

**Астапова О.В., Берчатова А.А. Генотерапевтические препараты: аспекты доклинического изучения безопасности. Безопасность и риск фармакотерапии. 2023;11(1):73-96*

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-1-329>

РЕЛЕВАНТНОСТЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Генотерапевтические лекарственные препараты

Релевантные животные (1 из 2)

Критерии для обоснования релевантности экспериментальных животных с человеком:

- трансдукции
- тканевое распределение
- экспрессия клеточных рецепторов вектора
 - Селективность, изоляция
- способность вектора к репликации в тканях
- активность регуляторных элементов (промоторов, энхансеров и пр.)
- гомологичность
- биологический ответ на продукт трансгена
- фармакокинетические параметры

Релевантные животные (2 из 2)

Обосновать:

- отсутствие релевантных видов
- отсутствие второго вида животных для изучения ТОКСИЧНОСТИ
- значение экспериментальных доз, путь и объем введения животным
- малую выборку животных

ОТДЕЛЬНЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ДОКЛИНИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ

Генотерапевтические лекарственные препараты

Длительность эксперимента

- Продолжительность и величина экспрессии трансгена – исследования специфической активности
- Персистенция вектора, клиренс, мобилизация – исследования биораспределения*

*Продолжительность исследования биораспределения – до полного исчезновения сигнала/достижения долгосрочного плато положительного сигнала

- Научное обоснование длительности эксперимента целесообразно включать в досье

** Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA/CAT/80183/2014. EMA:2018*

Программа доклинических исследований безопасности генотерапевтических препаратов

- **Общетоксическое действие** (возможны ситуации, когда конечные точки включают в эксперименты по изучению фармакологической активности, биораспределения*)
- **Местная переносимость**
- **Репродуктивная токсичность**
- **Иммуногенность**

* фармакологическая модель должна быть высокоспецифичной и валидированной, позволять выявить токсические эффекты, соответствовать GLP)

Фармакологическая безопасность

Влияние на жизненно-важные системы организма

- Конечные точки возможно включать в исследования общетоксического действия и биораспределения
- Продолжительность наблюдения нуждается в коррекции для оценки отсроченных эффектов

Дополнительные/уточняющие исследования – в зависимости от оценки биораспределения, селективности препарата, доклинических и клинических данных

Анализируемые органы/ ткани/ биологические жидкости (биораспределение)

Набор тканей (биораспределение)*

- | | |
|--|-------------|
| • Ткани места введения | • Печень |
| • Половые железы | • Почки |
| • Надпочечники | • Легкие |
| • Головной и спинной мозг
(шейный, грудной,
поясничный отделы) | • Сердце |
| | • Селезенка |
| | • Кровь |

*ICH harmonized guideline S12 on nonclinical biodistribution consideration for gene therapy products

Дополнительные ткани/биожидкости могут включать периферические нервы, ганглии дорсального корешка, спинномозговую жидкость, стекловидное тело, дренирующие лимфатические узлы, костный мозг, глаза и зрительный нерв.

Токсикологические исследования

Токсические эффекты необходимо оценить:

- в отношении самого генотерапевтического препарата (ГТ-конструкции)
- Продуктов экспрессии

Продолжительность изучения общетоксического действия

Клиническое применение – однократно

- Период от введения животным до плановой эвтаназии должно отражать продолжительность экспрессии трансгена у человека + восстановительный период

Клиническое применение – повторно

- Длительность эксперимента в соответствии с ICH M(3)R(2)/решение ЕЭК № 202, скорректированная в соответствии с продолжительностью экспрессии трансгена, видоспецифических особенностей*

**Guideline on the non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products. EMEA/CHMP/GTWP/125459/2006/EMA:2008*

Иммунотоксичность/иммуногенность (1 из 2)

- Применение генотерапевтических препаратов может вызывать иммунологические реакции – предусматриваются мероприятия для снижения риска при проведении клинического исследования
- Наличие в популяции иммунитета к различным серотипам вирусов, используемых в качестве платформ для векторов (адаптивный иммунитет к капсиду и чужеродному трансгену снижают эффективность терапии)
- Риск иммуногенности, обусловленный технологией редактирования генома
- Иммуногенность невирусных векторов (например, липосом)

Иммунотоксичность/иммуногенность (2 из 2)

- При разработке препарата оценивают иммуногенность (антивекторный иммунный ответ) – независимо от предполагаемой клинической частоты применения
- Изучение развития иммунологических реакций (иммунотоксичность, полиорганные воспалительные реакции, отложение иммунных комплексов, цитокиновый шторм и пр.) возможно включать в исследования общетоксического действия
- Риск перекрестной реактивности/фоновых аутоиммунных реакций *
- При разработке педиатрических препаратов необходимо учитывать незрелость иммунной системы у ювенильных ЖИВОТНЫХ

**Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA/ CAT/80183\2014. EMA:2018*

Местная переносимость

Реакции в месте введения препарата

- Воспалительная инфильтрация
- Миодегенерация
- Состав клеточного инфильтрата
- прочие

Отдаленные риски

- **Интеграция векторной ДНК, онкогенный потенциал** (рекомендуется также оценить, если случайное встраивание не ожидается; хранить образцы для последующих исследований интеграции по запросу регулятора)
- Рекомендуется оценить онкогенный потенциал *in silico* (стандартные исследования генотоксичности и канцерогенности не проводят)
- При обнаружении риска онкогенности – проводят исследования (напр., *in vitro*)

Вертикальный перенос генов

- Стандартные исследования репродуктивной токсичности малоинформативны (могут быть рекомендованы для восполнения пробелов*)
 - проникновение через плацентарный барьер и влияние на эмбриофетальное развитие, уровень векторной ДНК в гонадах, гаметах, вирусовыделение – до первого применения у человека
- В досье рекомендуется предоставить обоснование нецелесообразности проведения данного вида исследований

**Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA/ CAT/80183\2014. EMA:2018*

Риск для окружающей среды

Обязательный вид исследований, необходимо включать в досье на генотерапевтический препарат

Риски для человека*:

- выделение в окружающую среду векторных частиц
- образование рекомбинантных вирусов во время производства или после инфузии генотерапевтического препарата
- инсерционный мутагенез

Guideline on scientific requirements for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products. EMEA/CHMP/GTWP/ 125491/2006. EMA; 2008.

Риск для окружающей среды

Риски, связанные с выделением частиц-переносчиков для человека и животных:

- непреднамеренное воздействие ГТЛП на популяцию, для которой препарат не предназначен
- возникновение сверхэкспрессии нормального человеческого белка
- индукция иммунного ответа против частиц-переносчиков

Риск для окружающей среды

Необходимые исследования:

- выделения препарата с секретами и физиологическими жидкостями:
 - слюна
 - слезы
 - пот
 - прочие

Предпочтительной является количественная оценка методом ПЦР

Данный вид исследований целесообразно объединять с доклиническим изучением фармакокинетики

Риск для окружающей среды

- Не рекомендуется использование в генотерапевтическом препарате генов устойчивости к антибиотикам

В исключительных случаях при разработке такого препарата перед первым применением у человека необходимо изучить непреднамеренную экспрессию гена устойчивости в соматических клетках человека

- Необходимо оценить риск непреднамеренного образования способного к репликации провируса

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заключение

- Генотерапия является динамично развивающимся направлением, происходит регулярное обновление нормативно-методических рекомендаций по доклиническим исследованиям, появляются публикации по оценке соотношения пользы и риска
- При разработке программы доклинических исследований необходимо проанализировать всю актуальную информацию
- При проведении доклинических исследований целесообразно использовать актуальные международные рекомендации по изучению безопасности генотерапевтических препаратов

Международные руководства

Аспекты программы доклинических исследований ГТЛП <i>Aspects of GTMP non-clinical development programmes</i>	Документ <i>Document</i>
Биораспределение <i>Biodistribution</i>	ICH guideline S12 on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products (EMA/CHMP/ICH/318372/2021) General principles to address virus and vector shedding. ICH considerations (EMA/CHMP/ICH/449035/2009)
Перед первым применением у человека <i>Preclinical studies (before the first clinical use)</i>	Guideline on the non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products (EMA/CHMP/GTWP/125459/2006, 30 May 2008)
Репродуктивная токсичность <i>Reproductive toxicity</i>	Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors (EMA/273974/2005, 16 November 2006) General principles to address the risk of inadvertent germline integration of gene therapy vectors. ICH considerations (CHMP/ICH/469991/2006)
Риск для окружающей среды <i>Environmental safety</i>	Guideline on scientific requirements for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products (EMA/CHMP/GTWP/125491/2006, 30 May 2008) General principles to address virus and vector shedding. ICH considerations (EMA/CHMP/ICH/449035/2009)
Модификация продукта разработки <i>Design modification of GTMPs</i>	Reflection paper on design modification of gene therapy medicinal products during development (CAT/GTWP/44236/2009, 14 December 2011)
Рекombинантные аденоассоциированные вирусные векторы <i>Recombinant adeno-associated viral vectors</i>	Reflection paper on quality, non-clinical and clinical issues related to the development of recombinant adeno-associated viral vectors (EMA/CHMP/GTWP/587488/2007 Rev. 1, 24 June 2010)
Онколитические вирусные векторы <i>Oncolytic viral vectors</i>	Oncolytic viruses (EMA/CHMP/ICH/607698/2008)
Лентивирусные векторы <i>Lentiviral vectors</i>	Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors (CHMP/BWP/2458/03, 26 May 2005)

Астапова О.В., Берчатова А.А. Генотерапевтические препараты: аспекты доклинического изучения безопасности. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(1):73-96

<https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-1-329>



INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED GUIDELINE

**NONCLINICAL BIODISTRIBUTION CONSIDERATIONS FOR
GENE THERAPY PRODUCTS
S12**

Draft version

Endorsed on 3 June 2021

Currently under public consultation

Потенциальные риски генной терапии

С появлением новых технологий редактирования генома (например, CRISPR), гипотетически могут возникнуть другие формы токсичности, о которых пока ничего не известно

Выводы

- В досье генотерапевтического препарата рекомендуется включать подробное научное обоснование
- программы доклинических исследований,
- релевантности тест-систем
- Режим и продолжительность введения
- Отсроченное наблюдение и период восстановления
- другое

Выводы

- Отдельное внимание необходимо уделить обоснованию отсутствия отдаленных рисков после введения препарата
 - нецелевая интеграция,
 - нежелательные мутации клетки
 - онкогенный потенциал
 - вертикальный перенос генов
 - риск для окружающей среды
 - прочее



ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздрава России



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ