



# НАСТАНОВА

---

СТ-Н МОЗУ 42–6.6:2024

## ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

### ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОРОЗПОДІЛУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (ПРОДУКТІВ) ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ

*Видання офіційне*

Київ  
Міністерство охорони здоров'я України  
2024

## ПЕРЕДМОВА

- 1 РОЗРОБЛЕНО: Державне підприємство «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України»

ПЕРЕКЛАД І НАУКОВО-ТЕХНІЧНЕ РЕДАГУВАННЯ: **М. Бабенко**, канд. фарм. наук; **М. Лобас**, канд. мед. наук; **О. Семенченко**; **М. Козлов**, канд. мед. наук; **С. Распутняк**

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ПРИЙНЯТТЯ: Міністерство охорони здоров'я України

- 2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Міністерства охорони здоров'я України від 23 жовтня 2024 року № 1786

- 3 Ця настанова відповідає документу «ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», ЕМА/СНМР/ІСН/318372/2021 – September 2023 (Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії – вересень 2023).

Ступінь відповідності – модифікований (MOD)

Переклад з англійської (en)

- 4 ВВЕДЕНО ВПЕРШЕ

© Міністерство охорони здоров'я України, 2024

© Державний експертний центр МОЗ України, 2024

## ЗМІСТ

	Стор.
Передмова	II
Національний вступ	5
Сфера застосування	9
Нормативні посилання	10
Позначки та скорочення	11
Терміни та визначення понять	12
Доклінічні дослідження біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії	13
<b>1. Вступ</b>	13
<b>2. Сфера дії</b>	13
<b>3. Визначення терміну біорозподілу у доклінічних дослідженнях</b>	14
<b>4. Строки проведення доклінічної оцінки біорозподілу</b>	15
<b>5. Дизайн доклінічних досліджень біорозподілу</b>	15
5.1. Загальні міркування	15
5.2. Досліджуваний зразок	15
5.3. Вид тварини або тваринної моделі	16
5.4. Розмір групи і стать тварин	17
5.5. Шлях введення та вибір рівня дози	17
5.6. Відбір зразків	18
<b>6. Особливі міркування</b>	19
6.1. Методики аналізу	19
6.2. Вимірювання продуктів експресії	20
6.3. Імунологічні міркування	20
6.4. Генетично модифіковані клітини <i>ex vivo</i>	21
6.5. Оцінка біорозподілу в тканинах статевих залоз (гонад)	22
6.6 Тригери для додаткових доклінічних досліджень біорозподілу	22
6.7. Міркування щодо альтернативних підходів	23
<b>7. Застосування доклінічних досліджень біорозподілу</b>	24

<b>Примітки</b>	24
<b>Додаток В (довідковий)</b>	26
<b>Бібліографія</b>	

## НАЦІОНАЛЬНИЙ ВСТУП

Розробка та вивчення лікарських засобів генної терапії є одним із найважливіших напрямків розвитку біомедицини. У зв'язку з цим питання безпеки лікарських засобів генної терапії, насамперед на доклінічному етапі вивчення безпеки, особливо актуальні для охорони здоров'я населення. Розуміння профілю біорозподілу лікарського засобу (продукту) генної терапії є важливим елементом програми доклінічних досліджень. Дані біорозподілу сприяють інтерпретації та плануванню доклінічних фармакологічних і токсикологічних досліджень, які проводяться для підтримки ранньої фази клінічних випробувань.

Під час розробки програми доклінічної оцінки безпеки лікарських засобів генної терапії слід враховувати весь накопичений досвід та спиратися на актуальні керівництва та рекомендації у цій галузі. Нормативна база, що регулює доклінічні дослідження лікарських засобів генної терапії у Європейському Союзі та США, постійно оновлюється та актуалізується.

Ця настанова розроблена на підставі керівництва щодо доклінічних міркувань біорозподілу для продуктів генної терапії: «ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», ЕМА/СНМР/ІСН/318372/2021 – September 2023 («Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу продуктів генної терапії», ЕМА/СНМР/ІСН/318372/2021, вересень 2023) [11].

Організацією, відповідальною за цю настанову, є Міністерство охорони здоров'я України.

Положення настанови відповідають законодавству України: Закону України «Про лікарські засоби» [1], Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [2], Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів, затвердженого наказом Міністерства охорони здоров'я України

від 14 грудня 2009 року № 944, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України від 19 січня 2010 р. за № 53/17348 [3], Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типовому положенню про комісії з питань етики, затвердженого наказом Міністерства охорони здоров'я України від 23 вересня 2009 року № 690, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України від 29 жовтня 2009 р. за № 1010/17026 [4], Настанові з належної лабораторної практики [5], Настанові з належної клінічної практики [6], Директиві 2001/83/ЄС Європейського парламенту та Ради ЄС про кодекс Співтовариства відносно лікарських засобів, призначених для споживання людьми [10].

Під час розроблення настанови до положень документу ЕМА/CHMP/ICH/318372/2021, «ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», – September 2023 (Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу продуктів генної терапії – вересень 2023) [11] внесено окремі зміни, зумовлені законодавством і прийнятими в Україні гармонізованими нормативними документами. Деякі редакційні зміни було внесено безпосередньо до пунктів, яких вони стосуються.

Внесені редакційні зміни та додаткова інформація:

- назву наведено відповідно до положень ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів» [7];

- додатково введено такі структурні елементи: «Передмова», «Національний вступ», «Сфера застосування», «Нормативні посилання», «Позначки та скорочення», «Терміни та визначення понять», а також «Бібліографія», які оформлені згідно з положеннями ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів» [7] та ДСТУ 1.7-2015 «Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів» [8]. Розділ «Зміст» цієї настанови подано з

урахуванням додаткових структурних елементів;

- основні положення викладено у розділі «Доклінічні дослідження біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії»; при цьому кожен структурний елемент у цій настанові відповідає такому у керівництві: ЕМА/СНМР/ІСН/318372/2021, «ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», – September 2023 (Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу продуктів генної терапії – вересень 2023) [11];

- у розділі «Нормативні посилання» додатково наведено бібліографічний опис нормативних документів, що згадуються у цій настанові;

- у розділі «Бібліографія» додатково наведено бібліографічний опис нормативних документів, посилання на які наведено у цій настанові;

- перелік скорочень, що використовуються у цій настанові, наведено в розділі «Позначки та скорочення»;

- у цій настанові словосполучення «дозвіл на продаж» («marketing authorisation») замінено словом «державна реєстрація»;

- по всьому тексту внесено редакційні зміни у посилання на структурні одиниці цієї настанови;

- додатково до посилань на керівництва ІСН (англ. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use — Міжнародна рада з гармонізації технічних вимог до фармацевтичних препаратів для використання людиною) та ЕМА (англ. European Medicines Agency — Європейське агентство з лікарських засобів) зроблено посилання на відповідні гармонізовані документи, затверджені в Україні.

Ця настанова застосовується як методичні рекомендації під час доклінічних досліджень біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії.

Юридична сила цієї настанови відповідає юридичній силі відповідного керівництва ЕМА, з яким гармонізовано розроблену настанову. Цю настанову

#### СТ-Н МОЗУ 42–6.6:2024

необхідно розглядати як технічний документ для надання консультацій заявникам та власникам реєстраційних посвідчень, компетентним уповноваженим органам та/або іншим зацікавленим особам щодо найкращого та найбільш прийняттого способу дотримання положень, встановлених законодавством України. Ця настанова пов'язана зі специфічними науковими аспектами доклінічних міркувань щодо біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії. Положення цієї настанови відображають гармонізований (у рамках ЄС та ІСН) підхід, що базується на останніх наукових досягненнях у цій галузі знань.

У рамках законодавства ця настанова має рекомендаційний характер. Дотримання її положень зацікавленими сторонами (такими як заявники, власники реєстраційних посвідчень, розробники та виробники лікарських засобів, експертні та регуляторні органи) підвищить безпеку проведення клінічних випробувань, сприятиме вдосконаленню принципів етики та зменшенню використання лабораторних тварин, прискоренню впровадження у медичну практику нових лікарських засобів. Однак можуть бути застосовані альтернативні підходи за умови їх відповідного наукового обґрунтування.

Такий підхід до правового статусу більшості наукових настанов викладено у документі Європейського агентства з лікарських засобів (ЕМА) [9]. Вказаний підхід відповідає позиції Світової організації торгівлі щодо застосування стандартів.



## НАСТАНОВА

### ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ Доклінічні дослідження біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії

### MEDICINAL PRODUCTS Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products

---

Чинна від 23 жовтня 2024 року

#### СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

У настанові розглядаються питання доклінічних досліджень біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії.

Ця настанова застосовується до лікарських засобів, що розробляються, досліджуються, реєструються та виробляються в Україні для медичного застосування в Україні та з метою експорту.

Настанова рекомендована для суб'єктів господарювання, які займаються розробкою, доклінічним та клінічним вивченням, поданням заяв на державну реєстрацію (перереєстрацію) лікарських засобів на території України незалежно від відомчого підпорядкування та форми власності, для відповідних заявників та підприємств-виробників, продукція яких реєструється та імпортується в Україну, для науково-експертних організацій, експертів, що проводять експертизу під час державної реєстрації (перереєстрації) лікарських засобів, а також для аудиторів та інспекторів.

## НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

У цій настанові є посилання на такі нормативні документи:

Закон України «Про лікарські засоби».

Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований у Міністерстві юстиції України 19 січня 2010 року за № 53/17348.

Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 23 вересня 2009 року № 690 «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики», зареєстрований у Міністерстві юстиції України 29 жовтня 2009 року за № 1010/17026.

Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. – Лікарські засоби. Належна лабораторна практика / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.

Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.0:2008. – Лікарські засоби. Належна клінічна практика / В. Мальцев, М. Ляпунов, Т. Бухтіарова та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.

«ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», EMA/CHMP/ICH/318372/2021 – September 2023 (Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу для лікарських засобів (продуктів) генної терапії – вересень 2023).

## ПОЗНАЧКИ ТА СКОРОЧЕННЯ

AAV	– Adeno-Associated Virus ( <i>аденоасоційований вірус</i> )
BD	– Biodistribution ( <i>біорозподіл</i> )
CHMP	– Committee for Medicinal Products for Human Use ( <i>Комітет з лікарських засобів для людини</i> )
ELISA	– Enzyme-linked immunosorbent assay ( <i>метод плашкового твердофазного імуноферментного аналізу</i> )
EMA	– European Medicines Agency ( <i>Європейське агентство з лікарських засобів</i> )
GLP	– Good laboratory practice ( <i>належна лабораторна практика</i> )
GT	– Gene therapy ( <i>генна терапія</i> )
ICH	– International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use ( <i>Міжнародна рада з гармонізації технічних вимог до фармацевтичних препаратів для застосування у людей</i> )
IHC	– Immunohistochemistry ( <i>імуногістохімічне дослідження</i> )
ISH	– In situ hybridization ( <i>гібридизація in situ</i> )
PCR	– Polymerase chain reaction ( <i>полімеразна ланцюгова реакція</i> )
digital PCR	– Digital PCR ( <i>цифрова полімеразна ланцюгова реакція</i> )
qPCR	– Quantitative PCR ( <i>кількісна полімеразна ланцюгова реакція</i> )
RBA	– Risk-based approach ( <i>ризик-орієнтований підхід</i> )
ROA	– Route of administration ( <i>шлях введення</i> )
РНК	– рибонуклеїнова кислота
ЛЗ	– лікарський засіб

## ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

### **Вектори** (*Vectors*)

Засоби доставки або носії для генної терапії, що містять транскрипційно/трансляційно активний терапевтичний генетичний матеріал або генетичний матеріал для зміни геному хазяїна, який виготовляється для перенесення генетичного матеріалу в клітини. Вони включають як генетично модифіковані віруси, такі як аденовірус або аденоасоційований вірус (AAV), так і невірусні вектори, такі як плазмиди та генетично модифіковані мікроорганізми, і можуть включати цільові наночастинки, які мають здатність переносити генетичні матеріали або компоненти редагування генів до клітин.

### **Лікарські засоби (продукти) генної терапії (GT)** (*Gene therapy (GT) products*)

Терапевтичні препарати, дія яких обумовлена експресією (транскрипцією/трансляцією) перенесених генетичних матеріалів або шляхом специфічної зміни цільового геному клітин людини. Це поняття вживається для даної настанови.

### **Перенесення генів** (*Gene transfer*)

Доставка терапевтичного генетичного матеріалу в клітини за допомогою векторів (наприклад, трансдукція для вірусних векторів і трансфекція для плазмід).

### **Персистенція** (*Persistence*)

Тривале виявлення перенесених або модифікованих генетичних послідовностей в організмі після гострого контакту з продуктом генної терапії, внаслідок інтеграції генетичної послідовності в геном організму, видалення, вставки або іншої зміни після редагування геному, латентної інфекції вірусним вектором, що містить трансген, або перенесеного генетичного матеріалу в епісомальній формі.

### **Продукти експресії** (*Expression products*)

Молекули, такі як РНК і білок, що виробляються в клітинах під впливом перенесених генетичних матеріалів.

### **Тканинний тропізм** (*Tissue tropism*)

Для продуктів генної терапії схильність даного вектора до трансдукції або трансфекції певної групи тканин (або клітини).

### **Трансген** (*Transgene*)

Транскрипційно або трансляційно активний генетичний матеріал, переданий за допомогою вектора, призначений для надання біологічної активності після експресії в клітинах.

# ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОРОЗПОДІЛУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (ПРОДУКТІВ) ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ

## 1. ВСТУП

Метою цієї настанови є надання гармонізованих рекомендацій щодо проведення доклінічних досліджень біорозподілу (BD) при розробці лікарських засобів (продуктів) генної терапії (GT). Настанова містить рекомендації щодо загального дизайну доклінічних оцінок біорозподілу. Також наведені міркування щодо інтерпретації та застосування даних біорозподілу для підтримки програми доклінічних досліджень та планування клінічних випробувань. Рекомендації, наведені в цій настанові, мають сприяти розробці продуктів генної терапії, уникаючи при цьому надмірного використання тварин, відповідно до принципів 3R (зменшення/вдосконалення/заміна).

Розуміння профілю біорозподілу лікарського засобу (продукту) генної терапії після введення *in vivo* є важливим елементом програми доклінічних досліджень. Дані біорозподілу сприяють інтерпретації та плануванню доклінічних фармакологічних і токсикологічних досліджень, що проводяться для підтримки на ранній фазі клінічних випробувань у цільовій популяції. Незважаючи на те, що різні регуляторні органи видали керівництва, що містять рекомендації щодо проведення досліджень біорозподілу, у цій настанові надано узгоджене визначення терміну біорозподілу доклінічних досліджень і викладено загальні міркування щодо оцінки біорозподілу для продуктів генної терапії. У зв'язку з постійним науковим прогресом у галузі генної терапії рекомендується включати цю тему до ранніх етапів обговорень доклінічної програми для лікарського засобу (продукту) генної терапії з відповідним регуляторним органом.

## 2. СФЕРА ДІЇ

До лікарських засобів (продуктів) генної терапії, що входять до сфери

застосування цієї настанови, належать продукти, дія яких опосередковується експресією (транскрипцією або трансляцією) перенесених генетичних матеріалів. Деякі приклади лікарських засобів (продуктів) генної терапії можуть містити очищену нуклеїнову кислоту (наприклад, плазмід та РНК), мікроорганізми (наприклад, віруси, бактерії, гриби), генетично модифіковані для експресії трансгенів (включаючи продукти, які редагують геном хазяїна), та *ex vivo* генетично модифіковані клітини людини. Продукти, призначені для зміни геному клітини-хазяїна *in vivo* без специфічної транскрипції або трансляції (наприклад, доставка нуклеази і направляючої РНК невірусними методами), також розглядаються в цій настанові. Хоча у деяких регіонах принципи, викладені в цій настанові, наразі не розглядаються як принципи генної терапії, вони також застосовні до онколітичних вірусів, які не модифіковані генетично для експресії трансгену.

Ця настанова не поширюється на профілактичні вакцини. Хімічно синтезовані олігонуклеотиди або їх аналоги, які не виробляються за допомогою біотехнологічного виробничого процесу, також не входять до сфери дії цієї настанови.

Виділення продукту генної терапії за межі організму через екскременти та секрети (фекалії, сечу, слину, рідину з носоглотки тощо) або через шкіру (пустули, виразки, рани) називається «виведенням». Оцінка доклінічного профілю виведення генної терапії виходить за межі цієї настанови. Оцінка геномної інтеграції та інтеграції зародкової лінії продуктів генної терапії також виходить за межі цієї настанови. Міркування щодо цих аспектів доклінічних даних можна знайти у наявних відповідних документах ICH Consideration [12, 13].

### **3. ВИЗНАЧЕННЯ ТЕРМІНУ БІОРОЗПОДІЛУ У ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**

Біорозподіл (BD) — це розподіл, персистенція та кліренс продукту GT *in*

*in vivo* у місці введення, а також у тканинах-мішенях та немішенях, включаючи біологічні рідини (наприклад, кров, спинномозкову рідину, скловидне тіло). Доклінічна оцінка біорозподілу передбачає використання аналітичних методів для виявлення продукту генної терапії і перенесеного генетичного матеріалу у відібраних зразках і може включати методи виявлення продукту експресії перенесеного генетичного матеріалу.

#### **4. СТРОКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОКЛІНІЧНОЇ ОЦІНКИ БІОРОЗПОДІЛУ**

Дані про біорозподіл повинні бути доступними при оцінці та інтерпретації результатів доклінічної фармакології та токсикології. Доклінічні дані щодо біорозподілу також можуть бути використані при розробці різних аспектів дизайну першого клінічного випробування за участю людини (див. розділ 7). Важливо, щоб доклінічна оцінка біорозподілу була завершена до початку клінічного випробування.

#### **5. ДИЗАЙН ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ БІОРОЗПОДІЛУ**

##### **5.1. Загальні міркування**

Доклінічні дослідження для оцінки біорозподілу можуть проводитися як окремі дослідження біорозподілу або у поєднанні з доклінічними фармакологічними та токсикологічними дослідженнями. Тому в цьому документі термін «дослідження біорозподілу» означає будь-який варіант досліджень. Доклінічне дослідження біорозподілу слід проводити на біологічно релевантних видах тварин або моделях (див. розділ 5.3) після введення лікарського засобу (продукту) генної терапії, який є репрезентативним для запланованого клінічного лікарського засобу (див. розділ 5.2 щодо можливих альтернативних варіантів дослідження). Важливо, щоб шлях введення (ROA) максимально відображав передбачуваний клінічний шлях введення, а рівні дози, що вивчаються, забезпечували достатню характеристику профілю біорозподілу

(див. розділ 5.5).

Важливо перевірити якість, цілісність і надійність даних, отриманих під час оцінки біорозподілу. В основному доклінічні дослідження біорозподілу, які не проводяться відповідно до належної лабораторної практики (GLP), є прийнятними. Однак, якщо оцінка біорозподілу проводиться у межах токсикологічного дослідження, що відповідає вимогам GLP, важливо, щоб усі оцінки в процесі експлуатації та процедури збору зразків відповідали GLP. Аналіз зразків для біорозподілу може бути проведений у спосіб, що не відповідає вимогам GLP.

Питання, що стосуються генетично модифікованих клітинних продуктів *ex vivo*, розглядаються в розділі 6.4 цієї настанови.

## 5.2. Досліджуваний зразок

Досліджуваний зразок, що використовується в доклінічних дослідженнях біорозподілу, має бути репрезентативним для запланованого клінічного лікарського засобу (продукту) генної терапії, беручи до уваги виробничий процес, важливі характеристики продукту (наприклад, титр) та остаточну клінічну рецептуру. У деяких ситуаціях доклінічні дані біорозподілу, отримані за допомогою лікарського засобу (продукту) генної терапії, що складається з того самого вектора, призначеного для клінічного застосування, та іншого терапевтичного трансгена або маркерного гена (наприклад, вектора аденоасоційованого вірусу того самого серотипу та промотора, що спрямовує експресію трансгена флуоресцентного маркерного білка), можуть бути використані для підтримки профілю біорозподілу (див. розділ 6.7).

## 5.3. Вид тварини або тваринної моделі

Оцінку біорозподілу слід проводити на біологічно релевантних видах тварин або тваринних моделях, які підтримують перенесення та експресію генетичного матеріалу (примітка 1). Фактори відбору можуть включати видові



відмінності в тканинному тропізмі лікарського засобу (продукту) генної терапії, ефективність перенесення генів та експресію трансгену у цільових та нецільових тканинах/клітинах. У разі роботи з реплікаційно-компетентними вірусними векторами важливо, щоб вид тварини або тваринної моделі був придатним (permissive) до реплікації вектора.

Вплив виду, статі, віку, фізіологічного стану (наприклад, здорова тварина порівняно з тваринною моделлю хвороби) на профіль біорозподілу також може бути важливим. Крім того, слід враховувати здатність виду тварин для формування імунної відповіді проти введеного вектора та/або продукту експресії (див. розділ 6.3).

#### **5.4. Розмір групи і стать тварин**

Відповідна кількість тварин кожної статі (за необхідності) повинна бути оцінена в кожний заздалегідь визначений проміжок часу відбору зразків для отримання достатньої кількості даних, які підтримують комплексну оцінку біорозподілу (див. примітку 2). Відповідно до принципів 3R, загальна кількість тварин може бути агрегованою (сукупною) з декількох досліджень. Необхідно надати обґрунтування щодо кількості тварин, які оцінюються в кожний проміжок часу, а також щодо використання об'єднаних даних з декількох досліджень, якщо це застосовно. Обґрунтування також має бути надане, якщо оцінюється тільки одна стать.

#### **5.5. Шлях введення та вибір рівня дози**

Шлях введення лікарського засобу (продукту) генної терапії може впливати на профіль біорозподілу, включаючи типи трансдукованих клітин та імунну відповідь, тому лікарський засіб (продукт) генної терапії слід вводити з використанням передбачуваного клінічного шляху введення, наскільки це можливо (див. примітку 3). Вибрані рівні дози введеного лікарського засобу

(продукту) генної терапії повинні забезпечувати адекватну характеристику профілю біорозподілу, щоб допомогти в інтерпретації фармакологічних і токсикологічних оцінок. Найвищий оцінюваний рівень дози повинен бути очікуваним максимальним рівнем дози у токсикологічних дослідженнях (зазвичай обмежений розміром тварини, шляхом введення/анатомічною мішенню або концентрацією лікарського засобу (продукту) генної терапії). Важливо, щоб рівень дози для оцінки біорозподілу відповідав очікуваному максимальному клінічному рівню дози або перевищував його. Однак він не повинен перевищувати найвищий рівень дози, введеної в токсикологічному дослідженні.

## 5.6. Відбір зразків

Процедура відбору зразків цільових і нецільових тканин та біологічних рідин повинна бути розроблена таким чином, щоб звести до мінімуму можливість контамінації (contamination). Важливо дотримуватися попередньо визначеного процесу, який включає належне зберігання зразків, отриманих від кожної тварини (тих, які отримали контрольний препарат, і тих, яким вводили лікарський засіб (продукт) генної терапії), а також документування порядку відбору зразків. Проміжки часу відбору зразків під час доклінічного дослідження біорозподілу повинні бути підібрані таким чином, щоб достатньою мірою охарактеризувати пов'язані з часом зміни рівнів лікарського засобу (продукту) генної терапії у відповідних проміжках часу. За необхідності можуть бути включені додаткові проміжки часу, щоб всебічно оцінити тривалість періоду стабільного (стійкого) стану або оцінити персистенцію. Слід розглянути можливість включення проміжків часу для оцінки рівнів продуктів генної терапії після повторного введення, якщо це можливо.

Для реплікаційно-компетентних векторів проміжки часу відбору зразків також повинні включати виявлення другого пікового рівня, зумовленого реплікацією вектора, і подальшу фазу кліренсу у відповідному зразку (-ах).

Відібрані зразки повинні включати таку панель тканин/біологічних рідин: місце (-я) ін'єкції, статеві залози (gonads), надниркові залози, головний мозок, спинний мозок (шийний, грудний і поперековий), печінку, нирки, легені, серце, селезінку та кров. Ця панель може бути розширена залежно від додаткових критеріїв, таких як тип вектора / тканинний тропізм, продукт експресії, шлях введення, патофізіологія захворювання, стать і вік тварини. Наприклад, додаткові тканини / біологічні рідини можуть включати периферичні нерви, дорсальні корінцеві ганглії, спинномозкову рідину, склоподібну рідину, дренавальні лімфатичні вузли, кістковий мозок або очі та зоровий нерв. Рішення щодо остаточного відбору зразків повинно ґрунтуватися на основі даних щодо лікарського засобу (продукту) генної терапії, цільової клінічної популяції, шляху ведення та наявних доклінічних даних.

Зібрані зразки також можуть бути проаналізовані на наявність продукту експресії. Міркування щодо такої оцінки наведені в розділі 6.2 цієї настанови.

## **6. ОСОБЛИВИ МІРКУВАННЯ**

### **6.1. Методики аналізу**

Оцінка профілю біорозподілу потребує кількісного визначення наявності генетичного матеріалу (ДНК/РНК) лікарського засобу (продукту) генної терапії у тканинах / біологічних рідинах і, за необхідності, продукту (-ів) експресії. Наразі кількісне визначення векторного геному (геному вектора) та/або трансгена ДНК/РНК відносно вхідної геномної ДНК за допомогою встановлених методів ампліфікації нуклеїнових кислот (наприклад, qPCR, digital PCR тощо) вважається стандартом для виявлення продуктів генної терапії у тканинах / біологічних рідинах з плином часу (протягом певного часу). Якщо вміст клітин у зразку (наприклад, біорідини) значно варіюється, можна використовувати концентрацію ДНК/РНК (наприклад, кількість копій/мкл). Експерименти з виявлення та відновлення, які вважаються частиною розробки аналізу, мають бути проведені для демонстрації здатності виявляти послідовність цільової

нуклеїнової кислоти в різних тканинах / біорідинах.

У доклінічних дослідженнях для моніторингу біорозподілу вектора та/або продукту (-ів) експресії можуть використовуватися й інші методи. До них належать, зокрема, імуноферментний аналіз (ELISA), імуногістохімія (IHC), вестерн-блот, гібридизація *in situ* (ISH), проточна цитометрія, різні методи візуалізації *in vivo* та *ex vivo* та інші технології, що розвиваються.

Важливо надати вичерпний опис методології та обґрунтування використаної методики, включаючи параметри ефективності методу (наприклад, чутливість і відтворюваність).

## 6.2. Вимірювання продуктів експресії

Хоча кількісне визначення генетичного матеріалу продукту генної терапії є первинною оцінкою біорозподілу (див. розділ 6.1), визначення рівня продукту експресії в позитивних до геному вектора тканинах/біологічних рідинах може сприяти характеристиці профілів безпеки та активності після введення продукту генної терапії. Рішення щодо проведення таких оцінок повинні ґрунтуватися на обсязі доклінічних аналізів біорозподілу, необхідних для продукту генної терапії, який визначається з використанням підходу, що базується на оцінці ризиків. Цей підхід може включати розгляд рівнів і персистенції продукту генної терапії у тканинах/біологічних рідинах, розгляд цільової клінічної популяції і потенційних проблем безпеки, пов'язаних з вектором і/або продуктом експресії.

## 6.3. Імунологічні міркування

Наявний імунітет у тварин, особливо у приматів, які не належать до людиноподібних приматів, та інших видів негризунів, до лікарського засобу (продукту) генної терапії може вплинути на профіль біорозподілу. Перед включенням тварин до доклінічного дослідження слід розглянути можливість скринінгу тварин на наявність передіснуючого імунітету до вектора. У таких

ситуаціях важливо, щоб цей аспект був врахований в неупередженому методі, який використовується для рандомізації тварин у досліджувані групи.

Після введення лікарського засобу (продукту) генної терапії може виникнути клітинно-опосередкована або гуморальна імунна відповідь на лікарський засіб (продукт) генної терапії. Такі реакції можуть призвести до неінформативного профілю біорозподілу. Таким чином, спонсор може розглянути питання про відбір зразків для можливого аналізу імуногенності для підтримки інтерпретації даних біорозподілу.

Не рекомендується проводити імуносупресію тварин лише з метою оцінки профілю біорозподілу. Однак, якщо обставини, пов'язані з продуктом або видом, вимагають імуносупресії, необхідно надати обґрунтування.

У деяких випадках через видоспецифічну природу трансгена у тварини може виникнути клітинно-опосередкована або гуморальна імунна відповідь на продукт(и) експресії. У цьому випадку можна розглянути можливість використання видоспецифічного ортологічного трансгена, характерного для конкретного виду, щоб обійти ефекти імунної відповіді.

#### **6.4. Генетично модифіковані клітини *ex vivo***

При оцінці біорозподілу лікарських засобів (продуктів) генної терапії, які складаються з генетично модифікованих клітин *ex vivo* (тобто клітин, які були трансдуковані / трансфіковані *ex vivo*, а потім введені тварині / людині), слід враховувати такі фактори, як тип клітин, шлях введення (ROA) і можливість впливу продукту експресії або модифікації генів на очікуваний розподіл клітин в організмі (наприклад, нова або змінена експресія молекул клітинної адгезії).

Крім того, виникнення реакції «трансплантат проти хазяїна» у тварин може ускладнити інтерпретацію оцінки біорозподілу генетично модифікованих Т-клітин людини. Загалом оцінка біорозподілу генетично модифікованих клітин гемопоетичного походження *ex vivo* не є критичною, виходячи з очікуваного широкого розповсюдження після системного введення. Якщо очікується

розподіл в орган (-и) / тканину (-и)-мішені, слід розглянути можливість оцінки біорозподілу обраних тканин на відповідних видах / моделях тварин.

### **6.5. Оцінка біорозподілу в тканинах статевих залоз (гонад)**

Важливо проводити оцінку біорозподілу введеного лікарського засобу (продукту) генної терапії у статевих залозах для обох статей, якщо тільки цільова клінічна популяція не обмежується однією статтю (наприклад, для лікування раку простати або раку матки). Якщо продукт генної терапії або його генетичний матеріал не проявляє стійкості при використанні відповідного аналітичного методу (див. розділи 5.6 та 6.1), подальша оцінка може бути непотрібною.

Персистенція продукту генної терапії в гонадах може призвести до проведення додаткових досліджень для визначення рівнів продукту генної терапії в статевих клітинах (наприклад, ооцитах, сперматозоїдах) або нестатевих клітинах тварин. Ці дані, а також інші фактори (тип вектора, здатність до реплікації, потенціал інтеграції, рівень дози, ROA тощо), можуть допомогти оцінити ризик ненавмисної інтеграції статевих клітин або модифікації геному статевих клітин. Більш детальне обговорення цього питання див. у документі ICH Considerations 2006 року, присвяченому ненавмисній інтеграції GT-векторів у зародкову лінію [13].

Персистенція продуктів генної терапії у нестатевих клітинах гонад (наприклад, лейкоцитах, клітинах Сертоллі або клітинах Лейдіга) може бути підставою для додаткового розгляду його потенційного впливу на функцію уражених нестатевих клітин, особливо якщо цей тип клітин є важливим для успішної репродукції.

### **6.6. Тригери для додаткових доклінічних досліджень біорозподілу**

Під час розробки лікарського засобу (продукту) різні обставини можуть вимагати проведення додаткових досліджень для оцінки біорозподілу. Приклади

можливих випадків наведені нижче:

- значні зміни в програмі клінічної розробки, наприклад: зміна ROA; збільшення рівня дози лікарського засобу (продукту) генної терапії, що значно перевищує максимальний рівень дози, протестований у доклінічних дослідженнях; зміна режиму дозування; включення іншого клінічного показання, що включає обидві статі, замість початково запропонованої однієї статі. Додаткова оцінка біорозподілу може бути включена в будь-які додаткові фармакологічні та/або токсикологічні дослідження, що проводяться;
- значні зміни в структурі або серотипі вектора, або будь-які інші модифікації, які можуть призвести до змін у розподілі чи експресії трансгену;
- зміни у виробничому процесі, які можуть вплинути на кінцевий склад лікарського засобу (продукту) генної терапії (наприклад, додавання допоміжних речовин, що можуть змінити тропізм тканин вектора), або відповідні якісні характеристики лікарського засобу (продукту) генної терапії (наприклад, активність перенесення генів, титр продукту). Інші фактори, які слід враховувати при внесенні змін у виробництво, включають розмір частинок вектора, агрегатний стан, антигенність та потенційну взаємодію з іншими компонентами хазяїна (наприклад, сироватковими факторами).

## **6.7. Міркування щодо альтернативних підходів**

Наявні дані біорозподілу, отримані в доклінічних дослідженнях, проведених з тим самим лікарським засобом (продуктом) генної терапії, для обґрунтування іншого клінічного показання можуть бути потенційно достатніми. Однак при ухваленні такого рішення слід враховувати такі фактори, як рівень (-і) дози, режим дозування, ROA та зміна промотора. Дані щодо біорозподілу, отримані за допомогою раніше охарактеризованого продукту

генної терапії, який має таку ж структуру вектора та інші характеристики, що визначають його тканинний тропізм, але з іншим трансгеном, також можуть бути підставою для відмови від проведення додаткового доклінічного дослідження біорозподілу. Для такого підходу слід надати обґрунтування.

У деяких випадках біологічно релевантного виду тварин, який може надати інформацію про профіль біорозподілу у клінічній популяції, не існує. Наприклад, коли вектор зв'язується з молекулою-мішенню на клітинах людини, але ця мішень відсутня на клітинах тварин. За таких обставин важливо забезпечити всебічне обговорення цієї проблеми та обґрунтування альтернативного підходу до оцінки доклінічного біорозподілу.

## **7. Застосування доклінічних досліджень біорозподілу**

Характеристика профілю біорозподілу після введення лікарського засобу (продукту) генної терапії тваринам є критично важливим компонентом програми доклінічної розробки. Дані доклінічних досліджень біорозподілу сприяють загальній інтерпретації результатів дослідження, дозволяючи краще зрозуміти взаємозв'язок різних результатів (бажаних і небажаних) із введеним продуктом генної терапії. Віднесення результатів, що спостерігаються у тварин, до генетичного матеріалу (ДНК/РНК) та/або продукту (-ів) експресії є фактором, що дає змогу визначити потенційну користь, а саме: профіль ризику лікарського засобу (продукту) генної терапії перед застосуванням у людей.

Важливо враховувати релевантність даних біорозподілу для клінічної популяції на основі таких факторів, як шлях введення, рівень(і) дози, режим дозування та імунна відповідь тварин. Ці дані також можуть бути використані для елементів при проведенні першого випробування за участю людини і наступних клінічних випробувань, таких як процедура дозування (тобто інтервали між дозами для суб'єктів), план моніторингу та оцінка довгострокового спостереження.



## Примітки

1. Для оцінки біорозподілу біологічно релевантний вид або модель - це вид або модель, що, як очікується, створить профіль залежного від дози розподілу лікарського засобу (продукту) генної терапії у тканинах та експресії генного продукту, подібний до профілю у людей. Підтверджувальні дані можуть бути отримані з попередніх доклінічних досліджень біорозподілу, проведених із використанням лікарських засобів (продуктів) генної терапії, які складаються з тієї самої структури вектора, включаючи той самий елемент, що визначає тропізм тканини (наприклад, капсид вектора), та промотор трансгена, дані клінічних випробувань або рецензовану літературу, яка є предметом зацікавленості. Підтверджувальні дані мають бути отримані під час досліджень, у яких лікарський засіб (продукт) генної терапії було виготовлено за аналогічним технологічним процесом, і в яких рівень дози і ROA були подібні до запропонованого спонсорами використання. Для врахування вікових особливостей експериментальних тварин у додатку А керівництва ICH S11 наводиться порівняльна інформація про дозрівання органів у різних видів тварин [14].

2. Загалом рекомендується оцінювати щонайменше 5-ох гризунів або 3-ох негризунів залежно від статі/групи/проміжку часу. Слід надати обґрунтування кількості тварин, включаючи кількість/стать.

3. Для кожної використовуваної системи пристроїв доставки важливо надати дані, які підтверджують об'єм і рівень дози введеного лікарського засобу (продукту) генної терапії, що вводиться тваринам. Ця інформація може вплинути на інтерпретацію отриманого профілю біорозподілу. Якщо в клінічних випробуваннях планується використовувати нову систему пристрою для доставки, слід розглянути можливість збору даних біорозподілу у поєднанні з фармакологічними та/або токсикологічними дослідженнями, що проводяться з цією системою або її еквівалентом.

**ДОДАТОК В**  
**(довідковий)**

**БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Закон України «Про лікарські засоби».
2. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження».
3. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований у Міністерстві юстиції України 19 січня 2010 року за № 53/17348.
4. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 23 вересня 2009 року № 690 «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики», зареєстрований у Міністерстві юстиції України 29 жовтня 2009 року за № 1010/17026.
5. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. – Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
6. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.0:2008. – Лікарські засоби. Належна клінічна практика/В. Мальцев, М. Ляпунов, Т. Бухтіарова та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
7. ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів» – Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015.
8. ДСТУ 1.7:2015 – «Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів» – Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015.

9. EMEA/P/24143/2004 Rev.1 «Procedure for European Union guideline sandrelated documents with in the pharmaceutical legislativeframe work», 2009 (Процедура відносно настанов та супутніх документів Європейського Союзу у межах фармацевтичного законодавства, редакція 1, 2009).
10. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council, of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. (OJ L 311, 28.11.2001) (Директива 2001/83/ЄС Європейського Парламенту та Ради від 6 листопада 2001 року про кодекс Співтовариства щодо лікарських засобів, призначених для застосування людиною (Офіційний журнал, посилання 311, 28.11.2001)).
11. EMA/CHMP/ICH/318372/2021 «ICH S12 Guideline on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products», – September 2023 (Керівництво з доклінічних міркувань біорозподілу для продуктів генної терапії – вересень 2023).
12. EMA/CHMP/ICH/449035/2009 «ICH Considerations: General Principles to Address Virus and Vector Shedding», – July 2009 (Міркування ICH: загальні принципи боротьби з розповсюдженням вірусів та векторів – липень 2009).
13. CHMP/ICH/469991/2006 «ICH Considerations: General Principles to Address the Risk of Inadvertent Germline Integration of Gene Therapy Vectors», – November 2006 (Міркування ICH: загальні принципи усунення ризику ненавмисної інтеграції векторів генної терапії зародкової лінії, – листопад 2006).
14. EMA/CHMP/ICH/616110/2018 «ICH Guideline S11 on nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals», – September 2020 (Керівництво ICH S11 щодо доклінічних досліджень безпеки на підтримку розробки лікарських засобів для застосування в педіатрії – вересень 2020).

**Ключові слова:** біорозподіл, генна терапія, доклінічні дослідження, клінічні випробування, фармакологічні та токсикологічні дослідження, трансген, вектор, перенесення генів, тканинний тропізм, персистенція, кліренс, імунітет.