

## Оценка активности препаратов, содержащих клеточные линии человека: перспективные подходы и требования регуляторных органов

А. А. ЧАПЛЕНКО, Е. В. МЕЛЬНИКОВА, О. А. РАЧИНСКАЯ, Ю. В. ОЛЕФИР

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва

### Evaluation of the Activity of Drugs Containing Human Cell Lines: Promising Approaches and Requirements of Regulatory Bodies

A. A. CHAPLENKO, E. V. MELNIKOVA, O. A. RACHINSKAYA, YU. V. OLEFIR

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow

В настоящей статье проанализированы новейшие требования регуляторных органов США и Европы к оценке активности препаратов, содержащих клеточные линии человека (аналогов биомедицинских клеточных продуктов); приведён обзор методов и подходов к оценке активности используемых производителями препаратов для клеточной терапии как на разных стадиях клинических исследований, так и уже зарегистрированных. На основании представленных данных сформулированы основные принципы и критерии выбора тех или иных методов оценки активности, а также интерпретации получаемых результатов. Информация, представленная в статье, может быть полезна как производителям биомедицинских клеточных продуктов в Российской Федерации, так и представителям регуляторных органов в процессе экспертизы качества.

*Ключевые слова: клеточная терапия, клеточные линии, оценка качества, регуляторные требования.*

This article analyzes the latest requirements of the US and European regulatory authorities for the assessment of the activity of preparations containing human cell lines (biomedical cell product analogues); it gives a review of methods and approaches to the assessment of activity used by manufacturers at different stages of clinical studies and for already registered preparations for cell therapy. Based on the presented data, the basic principles and criteria for the selection of various methods for assessing activity, as well as the interpretation of the results obtained, are formulated. The information presented in the article can be useful both to the manufacturers of biomedical cellular products in the Russian Federation, and to the representatives of regulatory bodies in the process of quality examination.

*Keywords: cell therapy, cell lines, quality assessment, regulatory requirements.*

### Введение

В настоящее время основные направления создания инновационных препаратов для медицинского применения определяются одной из двух концепций — использованием клеточных линий (в том числе, генетически модифицированных) для создания молекул, исправляющих патологический процесс в организме, или применением самих клеток в качестве готового продукта. Таким образом, формируются два принципа создания препаратов — биотехнологический и биомедицинский, которые определяют подходы к разработке, производству и стандартизации продукта. Поскольку основным действующим компонентом биотехнологических препаратов являются молекулы органических веществ (или ком-

плексные структуры на основе таких молекул), для оценки качества применяют практически те же методы, что и для классических лекарств. Однако для продуктов, содержащих живые клетки человека, необходимо следовать принципиально новой парадигме доклинических исследований и контроля качества.

В частности, при оценке качества продуктов, содержащих клеточные линии человека, нормируют следующие показатели, отсутствующие в нормативной документации лекарственных средств: жизнеспособность клеток, вирусная и микоплазменная безопасность, активность [1]. Показатель «Активность», в обязательном порядке включаемый в спецификацию биомедицинского клеточного продукта (БМКП) [2], является одним из ключевых, поскольку даёт косвенную интегральную оценку потенциального терапевтического действия препарата. Оценка активности БМКП, как показателя качества,

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 123182 Москва, ул. Щукинская, д. 6. НЦЭ СМП

должна в значительной степени обосновывать исследования эффективности препарата, проводимые в ходе доклинических исследований, при этом метод такой оценки не должен быть связан со значительными финансовыми и временными затратами, ведь срок хранения клеточных препаратов, как правило, весьма ограничен [3]. Для того, чтобы результаты теста активности были объективными и достоверными, метод, с помощью которого он выполняется, должен быть связан с предполагаемым механизмом действия препарата. Нужно иметь в виду, что для ряда видов БМКП (например, мезенхимальные стромальные клетки (МСК) и некоторые схожие с ними прогениторные клетки) не всегда возможно определить единственный механизм терапевтического действия продукта. Так же трудно поддаются характеристике эффекты, связанные с экспрессией вводимыми клетками комплекса сигнальных и регуляторных молекул [4].

Проблема при разработке спецификации БМКП также заключается в высокой вариабельности клеточных линий в зависимости от донора и технологии выделения и культивирования клеточной линии. Как следствие, установить приемлемые границы величин параметров, характеризующих «активность», бывает довольно затруднительно.

Таким образом, актуальной проблемой разработчиков и производителей БМКП является выбор методов оценки активности и интерпретация получаемых результатов. Цель исследования — проанализировать требования к определению вышеназванного показателя за рубежом, а также охарактеризовать существующие подходы производителей и разработчиков к оценке активности препаратов на основе клеток человека.

### **Понятие активности для средств медицинского применения**

В соответствии с Руководством ICH 6QB29 [5], активность является «количественной мерой биологической активности, основанной на свойстве продукта, связанном с соответствующими биологическими характеристиками».

Исторически, оценка активности была базовой для оценки качества всех видов лекарств (начиная с растений и химических веществ), в частности, когда изучение структуры веществ было сильно ограничено. Проверка активности была единственным способом гарантировать, что действующее вещество обладает заявляемым эффектом. Первые монографии, включаемые в Фармакопеи, содержали показатель «биологическая оценка активности». В настоящее время, для лекарств, действующие вещества которых представляют небольшие органические молекулы с изученной структурой и механизмом действия, включение данного показателя нецелесообразно. Од-

нако для отдельных веществ биологического происхождения, особенно для вакцин, биологическая оценка активности остаётся ключевым показателем, так как их химическая структура не может быть оценена должным образом физико-химическими методами [6–8]. Разработка удобного метода оценки активности, например, для противоклюшной вакцины заняла более 35 лет, а переход к *in vitro* тесту для инсулина — около 10 [9].

Химический состав клеточных продуктов в настоящее время не поддаётся детальному изучению, а механизм действия не всегда полностью описан и зачастую включает множество путей. Содержание (выраженное в единицах массы или в единицах концентрации клеток) не является релевантной мерой биологической активности [9], поэтому для препаратов клеточной терапии необходима разработка специфических методов оценки функциональной и терапевтической активности клеток.

### **Требования регуляторных органов США и Европейского Союза, гармонизированных международных руководств**

Согласно требованиям основного регуляторного органа ЕС Европейского медицинского агентства (ЕМА) показатель «активность» (potency) должен быть включен в спецификацию всех продуктов на основе соматических клеток человека [10].

По сути, могут рассматриваться два типа испытаний активности: 1) испытания *in vitro* с использованием клеточных систем и 2) испытания *in vivo* с использованием животных моделей. Основные клеточные свойства, такие как жизнеспособность, самообновление, апоптоз и дифференциация играют ключевую роль для качества, функции и устойчивости клеточного продукта, и их необходимо контролировать в процессе производства и при выпуске продукции. Контроль осуществляют посредством суррогатных (косвенных) маркеров и подходящей технологии (например, анализа профилей генной экспрессии с помощью микрочипов, проточно-цитометрического анализа с иммунофлуоресцентным окрашиванием, клонирования клеток, ПЦР и др.). Испытания активности *in vivo* также могут быть полезны, особенно при наличии экспериментальных животных моделей. При этом маркеры для оценки чистоты и маркеры для активности не должны комбинироваться в одном и том же исследовании [9].

Поскольку действующее начало клеточных продуктов представлено живыми клетками, активность этих продуктов обычно не может быть отнесена к одной специфической клеточной характеристике. Анализ активности, например, клеточных вакцин, будет основываться на сложных

иммунных механизмах, которые зачастую плохо изучены. Определение также усложняется в связи с использованием композиций нескольких антигенов для иммунизации исходных клеток [11].

Для определения механизма действия клеточного препарата, необходима полная характеристика клеточной линии, поэтому на предварительном этапе устанавливают фенотип и функциональные свойства клеток. Исходя из этих характеристик, установленных в доклинических исследованиях, определяют концепцию оценки активности.

Результаты анализа активности должны обеспечивать уверенность в том, что количество вводимых клеток является достаточным для того, чтобы вызвать значимый терапевтический эффект, и находится в установленных пределах от партии к партии. Таким образом, выбранный метод оценки активности должен быть достаточно чувствительным, чтобы обнаружить клинически значимые изменения количества активного ингредиента в единичной дозе клеточного продукта, а методики определения активности должны быть валидированы аналогично методикам количественного определения лекарственных средств [12].

Требования регуляторного органа США (FDA) в целом соответствуют европейским. Согласно рекомендациям FDA, активность определяется как специфическая способность продукта, оцениваемая методами лабораторных исследований и подтверждаемая данными контролируемых клинических исследований, в ходе которых клеточный продукт вводился в рекомендуемой дозировке. Оценка активности может проводиться как *in vitro*, так и *in vivo* (либо включать оба варианта), при этом тесты должны быть специально разработаны для каждого конкретного продукта, чтобы продемонстрировать его эффективность в соответствии с научно обоснованным механизмом действия.

Рекомендации FDA допускают определённую гибкость подходов к определению активности с учётом специфики определяемого продукта при условии соблюдения основных требований и валидации методик [13].

Согласно позиции американского регулятора, не существует какого-либо одного испытания, с помощью которого можно с достаточной точностью измерить свойства препарата, обуславливающие его клиническую эффективность. Производители демонстрируют эффективность с помощью «существенного доказательства», т.е. доказательства того, что препарат будет обладать предусмотренным действием в условиях применения, предписанных, рекомендуемых или предлагаемых в инструкции по применению. Как правило, существенное доказательство эффективности получают в ходе надлежащих и строго контролируемых исследований, проводимых с исполь-

зованием препарата, полученного при неизменном производственном процессе. Испытания для оценки активности являются необходимой частью испытания по характеристике препарата, сравнительных исследований и протоколов стабильности, которые позволяют гарантировать, что во всех фазах клинического исследования используется препарат, полученный при неизменном производственном процессе [15].

В идеальном случае испытание для оценки активности будет отражать механизм действия препарата (т.е. соответствующую терапевтическую активность или предполагаемый биологический эффект). Однако во многих случаях клеточные препараты имеют сложные (например, зависящие от нескольких биологических активностей) и/или не полностью охарактеризованные механизмы действия, затрудняя определение того, какие свойства препарата имеют наибольшее значение для измерения активности. Несмотря на это, необходимо предпринять все усилия для разработки испытаний для оценки активности, которые отражают важные биологические свойства препарата. Например, активность генотерапевтического вектора зависит, как минимум, от двух биологических активностей: способности доставлять генетическую последовательность в клетку и биологического эффекта экспрессируемой генетической последовательности. Поэтому испытание для оценки активности должно включать в себя как оценку полноты доставки вектора, так и измерение биологического эффекта встроенной генетической конструкции [16].

Кроме того, предлагаемый механизм действия препаратов может зависеть более чем от одного активного ингредиента (например, несколько типов клеток, несколько векторов, мультиэпитопные вакцины). В случае с некоторыми сложными препаратами (например, вакцинами на основе опухолевых клеток) может быть неясно, какими именно ингредиентами обуславливается активность. Необходимо отметить, что для каждой серии лекарственного препарата должно быть проведено надлежащее лабораторное исследование соответствия спецификациям на выпуск лекарственного препарата, включая подлинность и концентрацию каждого активного ингредиента. Таким образом, если препарат содержит более одного активного ингредиента, может быть необходимо провести более одного определения для измерения активности препарата, потому что одного определения может быть недостаточно, чтобы измерить активность каждого активного ингредиента. Также при разработке испытания (испытаний) также следует рассмотреть возможные неаддитивные эффекты между активными ингредиентами, такие как интерференция или синергизм [17]. Возможные проблемы, возникающие

**Таблица 1. Примеры проблем, возникающих при разработке методик оценки активности клеточных продуктов**

Этап жизненного цикла препарата	Трудности, которые могут возникнуть при разработке испытаний для оценки активности клеточных продуктов	Примеры
Получение биоматериала	Естественная вариабельность исходных материалов [14]	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Вариабельность, связанная с аутологичными и аллогенными донорами</li> <li>• Гетерогенность клеточной линии</li> <li>• Подверженная ошибкам репликация вирусов</li> </ul>
	Ограниченный размер серии и ограниченный материал для исследования	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Одноразовая терапия с использованием аутологичных клеток, суспендированных в малом объеме</li> </ul>
Производство и контроль качества	Ограниченная стабильность	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Жизнеспособность клеточных препаратов</li> </ul>
	Отсутствие соответствующих стандартных образцов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Аутологичный клеточный материал</li> <li>• Новые генотерапевтические векторы</li> </ul>
	Несколько активных ингредиентов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Несколько клеточных линий, объединённых в готовом препарате</li> <li>• Неоднородные смеси опухолевых клеток, активированных пептидами (peptide pulsed tumor cells) и/или иммуномодулирующих клеток</li> <li>• Сочетание нескольких векторов</li> </ul>
Применение препарата	Возможность взаимного влияния или синергизма между активными ингредиентами	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Несколько генов, экспрессируемых одним и тем же вектором</li> <li>• Несколько типов клеток в аутологичных/аллогенных клеточных препаратах</li> </ul>
	Сложный механизм действия	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Несколько возможных эффекторных функций клеток</li> <li>• Несколько этапов, необходимых для функционирования, таких как инфицирование, интеграция и экспрессия трансгена</li> <li>• Векторы, содержащие несколько генов</li> </ul>
	Метаболический путь препарата в живом организме	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Миграция из места введения</li> <li>• Клеточная дифференцировка в желаемый тип клеток</li> <li>• Вирусная или клеточная репликация</li> <li>• Инфицирование вирусным вектором, сбрасывание оболочки и экспрессия трансгена</li> </ul>

при разработке методов оценки активности клеточных продуктов, приведены в табл. 1.

### **Концепции, используемые разработчиками и производителями для оценки активности клеточных продуктов**

**Использование матрицы испытаний для оценки активности.** Если одного анализа не достаточно для измерения свойств препарата, связанных с его активностью, тогда можно использовать альтернативный подход, например, разработку нескольких дополняющих друг друга испытаний, с помощью которых можно измерить различные свойства препарата, связанные с его качеством, постоянством и стабильностью. При совместном использовании, и при корреляции результатов с соответствующей биологической активностью, эти взаимодополняющие испытания должны обеспечивать надлежащее измерение активности. Подобная совокупность испытаний (называемая матрицей испытаний) может состоять из сочетания биологических, биологических и аналитических или только аналитических испытаний. Матрица испытаний может включать испытания, которые дают количественные данные (например, единицы активности) и/или качественные данные (например, соответствует/не соответствует).

Если качественные испытания используются как часть матрицы испытаний для определения активности при выпуске серии, в исследованиях стабильности или сравнительных исследованиях, вместе с ними должны быть проведены одно или несколько количественных испытаний.

**Подтверждение пригодности методов для оценки активности продукта.** Для того чтобы продемонстрировать активность с помощью аналитического испытания или матрицы испытаний, используемой в качестве косвенной характеристики биологической активности, следует предоставить достаточный объем научно обоснованных данных. Данные должны быть основаны на статистически обоснованном числе повторностей, серий или образцов, взятых у пациентов. Методами анализа данных должно быть подтверждено наличие корреляции между результатами матрицы испытаний и терапевтической активностью препарата.

Корреляционная связь между результатами предлагаемого метода и биологической активностью может быть установлена с помощью различных подходов, включая сравнение с доклиническими/подтверждающими концепцию исследования данными, данными *in vivo* (полученными на животных или в клинических исследованиях) или биохимическими или цитологическими данными *in vitro*. Следует показать, что с помощью испыта-

ния можно различить активный препарат и неактивную или деградировавшую формы препарата. Соответствие данных, используемых для подтверждения коррелятивной связи между альтернативным испытанием и биологической активностью препарата, оценивается в каждом конкретном случае и зависит от следующего:

- типа и значимости найденной корреляции (корреляций);
- количества собранной информации о препарате;
- насколько хорошо понимается биологическая активность препарата;
- насколько хорошо альтернативное измерение (измерения) отражают биологическую активность.

Как и для любого анализа, для оценки активности сбор данных по характеристике препарата и анализа, обосновывающих выбор анализа, должен начинаться в ранних фазах исследования.

**Оценка активности клеточных продуктов, предназначенных для восстановления и регенерации тканей.** Испытание *in vivo* может проводиться либо на животной модели, имитирующей запланированное клиническое восстановление/регенерацию ткани, либо может основываться на механизме действия (например, эктопической модели). Испытание *in vitro* может основываться на экспрессии маркеров, которые напрямую или косвенно (суррогатные маркеры) связаны с желаемой биологической активностью, таких как маркеры поверхности клеток, маркеры активации, паттерн экспрессии определённых генов. Также в качестве основного принципа для испытания активности может использоваться физиологическая реакция при определённых условиях, например дифференциации в специфические типы клеток и/или секреции тканеспецифичных белков (например, компонентов внеклеточной матрицы). Однако производитель должен удостовериться, что метод характеристики согласуется с предполагаемым биологическим эффектом *in vivo*.

Исследование активности должно проводиться при использовании определённого количества клеток, которое, по возможности, должно сопоставляться с сертифицированным эталонным препаратом. Активность должна определяться как время, необходимое для получения определённого эффекта (например, восстановления функции или анатомической структуры), или может рассчитываться на основе измерения эффекта, полученного за определённый период времени.

**Оценка активности клеточных продуктов с метаболической или фармакологической активностью.** Клетки, содержащиеся в БМКП, могут подвергаться химической обработке или генной модификации *in vitro* с целью экспрессии определённых необходимых белков, как например фак-

торов роста, антигенов клеточной поверхности или других молекул, с тем, чтобы поддерживать биологическую реакцию в новой среде настолько долго, насколько это необходимо. Поэтому испытания, разрабатываемые для определения активности, должны показывать оценку связанных с активностью свойств активной субстанции, которые могут создаваться не только неизменёнными жизнеспособными клетками, но и другими компонентами.

Если биологическая функция БМКП главным образом основывается на способности клеток секретировать специфическую молекулу (молекулы), например для коррекции метаболического нарушения, стимулирования роста, выработки метаболитов, тогда определение её активности будет основываться на обнаружении продуцируемой активной молекулы (молекул) и ожидаемой биологической активности. Это можно выполнить при помощи традиционных надёжных качественных и количественных аналитических методов (белкового анализа, идентификации нуклеиновых кислот, ВЭЖХ и т.д.). Ту же самую молекулу можно исследовать и в отношении её функции в системах моделей животных, основываясь на предположении о том, что активная субстанция выделяется из клеточного препарата в биологические жидкости (плазму, спинномозговую жидкость, мочу или интерстициальную жидкость) [18].

**Использование стандартов и контролей.** В протокол методики оценки активности в обязательном порядке включают контрольный опыт, без использования которого теряется достоверность результатов эксперимента. При необходимости (в связи с особенностями выбранного метода) включают также сравнение с соответствующим стандартным материалом для конкретного препарата. Проведение анализа стандартного материала для конкретного препарата и/или контрольных образцов параллельно с анализом самого препарата поможет обеспечить правильность выполнения испытания. Кроме того, контроли помогают установить, что оборудование и реактивы функционируют и используются в установленном порядке. Тщательно продуманный набор контрольных образцов может существенно повысить уверенность в значимости и надёжности результатов испытания.

По возможности, при разработке препарата следует также разработать свои собственные «внутренние» стандартные материалы. К таким стандартным материалам могут относиться надлежащим образом охарактеризованные клинические серии или другие материалы, охарактеризованные заявителем или полученные из другого источника (например, надлежащим образом охарактеризованная клеточная линия с профилем, схожим с профилем препарата заявителя). Долж-

но быть представлено чёткое обоснование того, как и почему был разработан стандартный материал (включая внутренний стандартный материал/контроль для конкретного препарата).

Другие стандартные материалы и стандарты могут оказаться полезными при разработке испытания и могут быть использованы для разработки и квалификации более подходящих внутренних стандартных материалов и/или контролей. Некоторые стандартные материалы, стандарты и контроли уже доступны или в настоящее время разрабатываются для характеристики биологических препаратов и/или для возможных «считывающих» систем, применяющихся в испытаниях для оценки активности. Например, доступны флуоресцентные гранулы/антитела, стандарты размера частиц и руководства, позволяющие выполнить поверку оборудования и определить параметры, приемлемые для количественного проточного цитометрического анализа. В настоящее время также доступны стандартные материалы для аденовируса 5 типа, ретровирусных векторов и векторов аденоассоциированных вирусов 2 типа. Были также описаны стандартные материалы и контроли для лентивирусных векторов.

Следует провести исследования стабильности стандартных материалов параллельно с исследованиями стабильности препарата и установить дату повторного испытания и срок хранения. Более того, необходимо надлежащим образом охарактеризовать каждую новую серию стандартного материала, сравнить её с оригинальной серией, установить соответствующие методики квалификации и, в конечном счёте, валидации новых стандартных материалов. По возможности, необходимо сохранять образцы [3, 4, 8] каждой серии внутреннего стандартного материала для сравнения их с вновь произведённым стандартным материалом, а также готовить их заранее с учётом истечения срока годности стандартных материалов. Использование карт статистического контроля для отображения текущих характеристик и показателей стабильности стандартного материала во время плановых испытаний может быть полезным инструментом контроля качества, позво-

ляющим выявить неблагоприятные тенденции на раннем этапе.

**Валидация качественных испытаний.** Как обсуждалось ранее, качественные испытания могут быть использованы как часть матрицы испытаний для оценки активности при условии проведения соответствующих корреляционных исследований. Необходимо валидировать все основные параметры качественных испытаний и предоставить обоснование для тех параметров, которые были определены как второстепенные. Например, хотя некоторые валидационные параметры испытания (например, линейность) могут быть не применимы для качественного анализа, по результату которого можно только определить, выдерживает или не выдерживает препарат это испытание, следует использовать соответствующие контрольные образцы для характеристики испытания в отношении специфичности, а также других показателей надлежащего выполнения испытания (например, робастности, пригодности системы).

Без количественных данных было бы трудно продемонстрировать точность и прецизионность, однако при надлежащей разработке анализа (например, достаточное число повторностей) можно продемонстрировать его надлежащее постоянство. В полуколичественных анализах (анализы с высокой изменчивостью количественного результата, например, ответ в животной модели) для определения робастности и постоянства могут использоваться более широкие диапазоны приемлемости. Следует установить критерии приемлемости для контроля и/или стандартного материала при проведении качественного анализа, чтобы определить, являются ли испытания приемлемыми. Если контроли не выдерживают большинства отдельных испытаний, анализ не будет считаться приемлемым. Кроме того, ввиду сложной природы продуктов конкретные обстоятельства определения пригодности анализа будут различными для каждого анализа.

При выборе подходов к оценке активности важно учесть опыт производителей аналогичных или подобных продуктов, примеры некоторых из них представлены в табл. 2.

**Таблица 2. Реализованные и одобренные регуляторными органами подходы к оценке активности**

Препарат	Статус	Метод оценки активности	Ссылка
Chondro Select (Tigenix) аутологичные хондроциты	Одобен EMA	Оценка экспрессии молекулярных маркеров (мРНК) методом ПЦР	[19]
Provence (sipuleucel-T) активированные дендритные клетки	Одобен FDA	Оценка экспрессии CD54 методом проточной цитометрии	[20]
AMR-001 (Amorcyte) клетки костного мозга	Фаза I КИ	Тест миграции <i>in vitro</i> CD34+/CXCR4+ клеток в градиенте SDF-1	[15]
Prochymal (Osiris) мезенхимальные стромальные клетки	Одобен в Канаде	Оценка экспрессии TNFR1 методом ИФА	[21]
Multistem (Athersys) стволовые клетки костного мозга	Фаза I КИ	Оценка экспрессии VEGF, IL8 и CXCL5 методом ИФА	[22]
GRN-001(Geron) клетки-предшественники олигодендроцитов	Фаза I КИ	Оценка секреции ряда нейротрофных факторов методом ИФА	[15]

## Заключение

Стратегия оценки активности клеточного препарата должна быть проработана на ранней стадии разработки продукта, не только в рамках оценки качества, но также для построения общей стратегии контроля качества и выпуска продукта. Кроме того, неправильно выбранный метод анализа активности может стать причиной исключения ряда показаний к применению клеточного продукта. Постоянное взаимодействие и обсуждение с регуляторными органами разрабатываемых методов оценки качества является распространённой практикой передовых разработчиков и производителей препаратов клеточной терапии в ЕС и США и позволяет снизить риски данных неблагоприятных последствий.

Для большинства клеточных препаратов основной механизм действия, как правило, частично определён, и он должен являться определяющим при выборе стратегии оценки активности препарата. Релевантный метод оценки активности препарата позволяет вывести качество продукта на новый уровень, отследить даже небольшие нарушения в технологии производства, а также оценить приемлемость замены некоторых параметров (исходных клеток, используемых сред, оборудования и др.).

Как результат анализа требований регуляторных органов ЕС и США, а также опыта разработчиков клеточных продуктов по всему миру, была сформирована упрощённая схема разработки методов оценки активности клеточных продуктов (рисунок), которая может быть использована при формировании спецификации новых клеточных продуктов в России и за рубежом.

**Характеристика морфофункциональных свойств клеточной линии и изучение предполагаемых механизмов действия клеточного препарата**

**Выбор потенциальных косвенных маркеров (в т.ч. физико-химических характеристик) и соответствующих методов анализа**

**Оценка статистической корреляции между результатами косвенных тестов и зарегистрированной функциональной активностью *in vivo***

**Отбор релевантных методик оценки активности и их валидация, построение матрицы испытаний для включения в спецификацию готового продукта и/или для внутрипроизводственного контроля**

**Схема-план разработки метода оценки активности препаратов для клеточной терапии**

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР АААА-А18-118021590045-2).

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Viswanathan C., Ramdasi S., Kulkarni R., Bopardikar A.* Quality Management in the Manufacture of Stem-Cell-Based-Products. *J Stem Cells* 2017; 12 (4): 191–199.
2. Приказ МЗ РФ от 19 января 2017 года N 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт». / Приказ МЗ РФ от 19 января 2017 года N 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт». [in Russian]
3. *Stacey G. N., Cannon C. J., Coopman K., Dickson A. J., Fuller B., Hunt C. J., Moore H.* Preservation and stability of cell therapy products: recommendations from an expert workshop. *Regenerative med* 2017; 12 (5): 553–564.
4. *Lipsitz Y. Y., Timmins N. E., Zandstra P. W.* Quality cell therapy manufacturing by design. *Natur biotechnol* 2016; 34 (4): 393.
5. ICH Harmonised tripartite guideline specifications: test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products Q6B. 10 March 1999.
6. *Юнасова Т. Н., Фадейкина О. В., Сидоренко Е. С., Суханова Л. Л., Шитикова О. Ю., Саркисян К. А. и др.* Разработка и изучение отраслевого стандартного образца активности вакцины против краснухи. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. — 2015. — № 3. — С. 49–53. / *Yunasova T. N., Fadeykina O. V., Sidorenko E. S., Sukhanova L. L., Shitikova O. YU., Sarkisyan K. A. i dr.* Razrabotka i izuchenie otraslevogo standartnogo obraztsa aktivnosti vaksiny protiv krasnukhi. Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie 2015; 3: 49–53. [in Russian]
7. *Олефир Ю.В., Меркулов В.А., Воробьёва М.С., Рукавишников А.В., Бондарев В.П., Шевцов В.А.* Отечественный препарат иммуноглобулина человека для экстренной профилактики и лечения клещевого энцефалита. *Иммунология*. — 2015. — Т. 36. — № 6. — С. 353–357. *Olefir Yu.V., Merkulov V.A., Vorob'eva M.S., Rukavishnikov A.V., Bondarev V.P., Shevtsov V.A.* Otechestvennyy preparat immunoglobulina cheloveka dlya ekstremnoy profilaktiki i lecheniya kleshchevogo entsefalita. *Immunologiya* 2015; 36 (6): 353–357. [in Russian]
8. *Гаврилова Н. А., Черепушкин С. А., Рыкалина Н. В., Обухов Ю. И.* Разработка метода определения биологической активности препаратов эритропоэтина *in vitro*. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. — 2016. — № 2. — С. 120–124. / *Gavrilova N. A., Cherepushkin S. A., Rykalina N. V., Obukhov Yu. I.* Razrabotka metoda opredeleniya biologicheskoy aktivnosti preparatov eritropoetina *in vitro*. Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie. 2016; 2: 120–124. [in Russian]
9. *Pimpaneau V., Gianelli F., Trouvin J. H., Poiseau A. D.* The challenges of potency assay development for cell-based medicinal products in Europe. *Regul Rapp* 2015; 12 (5): 5–10.
10. Guideline on human cell-based medicinal products. EMEA/CHMP/410869/2006.
11. Guideline on potency testing of cell based immunotherapy medicinal products for the treatment of cancer. EMA/CHMP/BWP/271475/2006 rev.1.
12. *Carmen J., Burger S. R., McCaman M., Rowley J. A.* Developing assays to address identity, potency, purity and safety: cell characterization in cell therapy process development. *Regenerat med* 2012; 7 (1): 85–100.
13. Guidance for Industry Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM243392.pdf>
14. *Phinney D. G.* Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells: implications for cell therapy. *J Cell Biochem* 2012; 113 (9): 2806–2812.

15. *Bravery C. A., Carmen J., Fong T., Oprea W., Hoogendoorn K. H., Woda J., Van't Hof W.* Potency assay development for cellular therapy products: an ISCT review of the requirements and experiences in the industry. *Cytotherapy* 2013; 15 (1): 9—19.
16. *Guthrie K., Bruce A., Sangha N., Rivera E., Basu J.* Potency evaluation of tissue engineered and regenerative medicine products. *Trends in biotechnol* 2013; 31 (9): 505—514.
17. *Samsonraj R. M., Rai B., Sathiyathan P., Puan K. J., Röttschke O., Hui J. H., Cool S. M.* Establishing criteria for human mesenchymal stem cell potency. *Stem Cells* 2015; 33 (6): 1878—1891.
18. *Mattar P., Bieback K.* Comparing the immunomodulatory properties of bone marrow, adipose tissue, and birth-associated tissue mesenchymal stromal cells. *Frontiers in Immunol* 2015; 6 (560): 1—8.
19. *Luyten Frank, Cosimo De Bari, Francesco Dell'Accio.* Marker genes for use in the identification of chondrocyte phenotypic stability and in the screening of factors influencing cartilage production. U.S. Patent Application No. 12/515488. 2010.
20. *Cheever M. A., Higano C. S.* PROVENGE (Sipuleucel-T) in prostate cancer: the first FDA-approved therapeutic cancer vaccine. *Clin Cancer Res* 2011; 17 (11): 3520—3526.
21. *Chen G. L., Paplham P., McCarthy P. L.* Remestemcel-L for acute graft-versus-host disease therapy. *Exp Opin Biol Ther* 2014; 14 (2): 261—269.
22. *Lehman N., Cutrone R., Raber A., Perry R., Van't Hof W., Deans R., Woda J.* Development of a surrogate angiogenic potency assay for clinical-grade stem cell production. *Cytotherapy* 2012; 14 (8): 994—1004.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Чапленко А.А.* — эксперт 2 категории лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава РФ, Москва

*Мельникова Е.В.* — к. б. н., главный эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава РФ, Москва

*Рачинская О.А.* — к. б. н., эксперт 1 категории лаборатории биомедицинских клеточных продуктов ИЦЭКЛС ФГБУ НЦЭСМП Минздрава РФ, Москва

*Олефир Ю.В.* — д. м. н., с. н. с., генеральный директор ФГБУ НЦЭСМП Минздрава РФ, Москва