



СТАНДАРТ

НАСТАНОВА

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

**ОЦІНКА ІМУНОГЕННОСТІ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ,
ПРИЗНАЧЕНИХ ДЛЯ КЛІНІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ *IN VIVO***

СТ-Н МОЗУ 42-7.3:2015

Видання офіційне

Київ

Міністерство охорони здоров'я України

2015

ПЕРЕДМОВА

- 1 РОЗРОБЛЕНО: ДП «Державний експертний центр МОЗ України»
ПЕРЕКЛАД І НАУКОВО-ТЕХНІЧНЕ РЕДАГУВАННЯ: **Т. Талаєва**, д-р мед. наук, професор; **В. Коваленко**, д-р мед. наук, професор, академік НАМН України; **О. Резніков**, д-р мед. наук, професор, академік НАМН України, чл.-кор. НАН України; **І. Кудрявцева**, д-р фармац. наук; **Л. Дорошук**

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ПРИЙНЯТТЯ: Міністерство охорони здоров'я України
- 2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Міністерства охорони здоров'я України від 21.05.2015 № 295
- 3 Ця настанова відповідає документу:
ЕМЕА/CHMP/BMWP/86289/2010 «Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use, 24 May 2012»
(Керівництво з оцінки імуногенності моноклональних антитіл, призначених для клінічного застосування *in vivo*, 24 травня 2012)
Ступінь відповідності – модифікований (MOD)
Переклад з англійської (En)
- 4 ВВЕДЕНО ВПЕРШЕ

© Міністерство охорони здоров'я України, 2015

© Державний експертний центр МОЗ України

Зміст

	Стор.
Національний вступ	IV
Сфера застосування	1
Познаки та скорочення	2
Короткий огляд	3
1. Вступ	3
2. Сфера застосування	3
3. Законодавча база	4
4. Проблеми, що виникають при скринінгу та у підтверджувальних дослідженнях, які застосовуються в оцінці імуногенності МАТ	5
4.1. Методи аналізу для виявлення антитіл	5
4.2. Наявність продукту МАТ у зразках для аналізу	6
4.3. Підтверджувальні аналізи	7
4.4. Контроль	7
5. Оцінка нейтралізуючої здатності антитіл до МАТ	7
6. Управління ризиком виникнення імуногенності МАТ	8
6.1. Ідентифікація ризику	8
6.2. Оцінка ризику	11
6.3. Моніторинг та зменшення ризику	13
Національний додаток «Бібліографія»	15

НАЦІОНАЛЬНИЙ ВСТУП

При плануванні та розробці лікарського засобу закладаються його якість, безпека та ефективність. Це великою мірою стосується біотехнологічних продуктів, зокрема отриманих з моноклональної клітинної лінії.

Правильна розробка препарату та організація його досліджень є найважливішими умовами для забезпечення якості, безпеки та ефективності. Якщо на етапі розробки не отримані всебічні наукові експериментальні дані з урахуванням потенційних ризиків для безпеки та ефективності та не проведена їх оцінка, то забезпечити отримання цільового продукту з заданими параметрами неможливо. Однією з найбільш серйозних проблем безпеки терапії біопрепаратами є імуногенність – потенційна можливість розвитку імунних реакцій. Імуногенність залежить від багатьох факторів, пов'язаних як із самим препаратом, так і з особливостями імунного та антигенного статусу пацієнтів. Це у значною мірою стосується моноклональних антитіл.

Оцінка імуногенності моноклональних антитіл на етапі їх розробки є обов'язковою вимогою для підтвердження його безпеки при реєстрації, і ці дані повинні міститися у реєстраційному досьє [1].

В Європейському Союзі (ЄС) введено спеціальне керівництво EMEA/CHMP/BMWP/86289/2010 «Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use, 24 May 2012» [2], у якому встановлюються вимоги до оцінки імуногенності моноклональних антитіл.

Ця настанова розроблена на підставі керівництва з якості, прийнятого в ЄС:

EMEA/CHMP/BMWP/86289/2010 «Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use, 24 May 2012» (Керівництво з оцінки імуногенності моноклональних антитіл, призначених для клінічного застосування *in vivo*, 24 травня 2012) [2].

Організація, відповідальна за цю настанову, – Міністерство охорони здоров'я України.

Настанова містить положення, що відповідають чинному законодавству України.

До цієї настанови було внесено окремі зміни, зумовлені правовими вимогами та прийнятими в Україні гармонізованими нормативними документами. Деякі редакційні зміни було долучено безпосередньо у пункти, яких вони стосуються; ці зміни позначено іншим шрифтом та літерою ^N.

До настанови внесено такі редакційні зміни та додаткову інформацію:

- назву цієї настанови наведено відповідно до вимог ДСТУ 1.5-2003 «Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів» [3], а позначення – відповідно до вимог стандарту СТ-Н МОЗУ 42-1.0:2005 «Фармацевтична продукція. Система стандартизації. Основні положення» [4];
- додатково введені такі структурні елементи настанови, як «Передмова», «Національний вступ», «Сфера застосування», «Позначки та скорочення», а також національний додаток «Бібліографія», які оформлені відповідно до вимог ДСТУ 1.5-2003 «Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів» [3] та ДСТУ 1.7-2001 «Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів» [5]. «Зміст» цієї настанови подано з урахуванням додаткових структурних елементів;
- у національному додатку «Бібліографія» додатково наведено бібліографічний опис нормативних документів, посилання на які наведено у цій настанові;
- у розділі «Позначки та скорочення» додатково наведено позначення скорочень, що використовуються у цій настанові;
- у цій настанові слова «заявка на торгову ліцензію» («marketing authorisation application») замінено на «реєстраційне досье»; («post-authorisation») – на «післяреєстраційний»;
- додатково до посилань на керівництва ЄС та ІСН зроблено посилання на відповідні гармонізовані документи, затверджені в Україні.

Ця настанова застосовна як методичні рекомендації для планування, розробки, організації доклінічних та клінічних досліджень для встановлення подібності біосиміляру та референтного моноклонального антитіла.

Правовий статус цієї настанови відповідає правовому статусу відповідного керівництва в ЄС та інших регіонах ІСН, з яким гармонізовано розроблену настанову. Цю настанову слід 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 виконання положень, визначених фармацевтичним законодавством України. Положення цієї настанови

відображують гармонізований (у рамках ЄС та ІСН) підхід; вони базуються на останніх наукових досягненнях у цій галузі знань.

У рамках чинного фармацевтичного законодавства ця настанова не має сили нормативно-правового акта, її положення є рекомендаціями. Цю настанову слід розглядати як гармонізовану позицію європейського фармацевтичного сектора; дотримання її положень зацікавленими сторонами (такими як заявники, власники реєстраційних посвідчень, розробники та виробники лікарських препаратів, експертні та регуляторні органи) полегшить оцінку реєстраційних досьє в Україні, а також допоможе у плануванні та проведенні досліджень з фармацевтичної розробки. Однак можуть бути застосовані також альтернативні підходи за умови їх відповідного наукового обґрунтування.

Такий підхід до правового статусу більшості наукових керівництв викладений у документі Європейського агентства з лікарських засобів (ЕМА) Doc. Ref. EMEA/P/24143/2004 «Procedure for European Union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework, 2005» (Процедура щодо керівництв та супутніх документів Європейського Союзу в рамках фармацевтичного законодавства, 2005) [6]. Вказаний підхід відповідає позиції ВТО відносно застосування стандартів.

НАСТАНОВА ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

**Оцінка імуногенності моноклональних антитіл, призначених для
клінічного застосування *in vivo***

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

**Оценка иммуногенности моноклональных антител,
предназначенных для клинического применения *in vivo***

MEDICINAL PRODUCTS

**Immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for *in vivo*
clinical use**

Чинна від 2015-05-21

СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Ця настанова визначає положення (рекомендації) щодо розробки програми систематичної оцінки небажаної імунної відповіді на застосування терапевтичних або *in vivo* діагностичних моноклональних антитіл у пацієнтів. Ця настанова не поширюється на лікарські засоби для ветеринарії.

Ця настанова застосовна до біологічних лікарських препаратів на основі моноклональних антитіл, що розробляються, досліджуються, реєструються та виробляються для медичного застосування в Україні і з метою експорту або імпортується в Україну.

Ця настанова рекомендується для суб'єктів господарювання (далі – організацій), які займаються розробкою, складанням досьє на реєстрацію та/або виробництвом біологічних лікарських препаратів на основі моноклональних антитіл 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 та регуляторних органів, а також експертів, аудиторів та інспекторів, що проводять експертизу при реєстрації (перереєстрації) біологічних лікарських препаратів на основі моноклональних антитіл та аудит.

ПОЗНАКИ ТА СКОРОЧЕННЯ

ЄС — Європейський Союз

CPMP або	—	Committee for Medicinal Products for Human Use (Комітет з лікарських препаратів для людини)
CHMP		
EMA	—	European Medicines Agency (Європейське агентство з ліків)
ICH	—	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини)
MAT	—	моноклональні антитіла
ФК	—	фармакокінетика
ФД	—	фармакодинаміка
ІФА	—	імуноферментний аналіз
ЕХЛА	—	електрохемилюмінісцентний аналіз
ППР	—	поверхневий плазмонний резонанс
CDR	—	complementary determining regions (ділянки, що визначають компліментарність)
IgG	—	імуноглобулін G
IgM	—	імуноглобулін M
IgE	—	імуноглобулін E
IgA	—	імуноглобулін A
Fc	—	fragment crystallizable (фрагмент, здатний до кристалізації)
Fab	—	fragment antigen binding (антигензв'язуючий фрагмент)
scFv	—	single-chain variable fragment (одноланцюговий варіабельний фрагмент)

КОРОТКИЙ ОГЛЯД

У цій настанові розглядаються питання, які стосуються небажаної імуногенності моноклональних антитіл (МАТ), призначених для клінічного застосування. Ці питання включають фактори, що впливають на імуногенність МАТ, клінічні наслідки імуногенності, проблеми, пов'язані з визначенням кількісного вмісту, оцінкою нейтралізуючих антитіл, індукованих МАТ, та розгляд підходу до аналізу імуногенності МАТ, що базується на оцінці ризику.

Положення цієї настанови є доповненням до положень керівництва з оцінки імуногенності терапевтичних протеїнів, отриманих за допомогою біотехнологій (ЕМЕА/СНМР/ВМВР/14327/2006), і цю настанову слід застосовуватися разом з вищевказаним керівництвом.

1. ВСТУП

Імуногенність може бути значною проблемою при лікуванні пацієнтів біологічними лікарськими препаратами. Це питання розглядається СНМР у керівництві з оцінки імуногенності терапевтичних протеїнів, отриманих за допомогою біотехнологій (прийнято у квітні 2008 року, далі – загальне керівництво), яке у принципі можна застосовувати й до МАТ. Незважаючи на те, що багато аспектів імуногенності МАТ не відрізняються від аспектів імуногенності інших терапевтичних протеїнів, деякі з них вимагають більш специфічного розгляду. Очікується, що МАТ не спричинятимуть утворення антитіл, які дають перехресну реакцію та нейтралізують ендogenous антитіла (як у випадку з еритропоєтинами), та не застосовуватимуться як замісна терапія. Часто МАТ застосують як терапевтичний або діагностичний засіб у випадках, коли існують альтернативні методи лікування або діагностики. Однак деякі специфічні аспекти імуногенності виключно або переважно характерні для МАТ або нових похідних МАТ (наприклад, антигензв'язуючий фрагмент (Fab), одноланцюговий варіабельний фрагмент (scFv), нанотіла, мінітіла), які розглядаються у цій настанові.

МАТ представляють великий важливий клас терапевтичних біологічних продуктів. Діапазон клінічних показань до лікування за допомогою МАТ дуже широкий. Відомо, що з багатьма МАТ асоційована небажана імуногенність, та у деяких випадках імуногенність призводить до послаблення клінічної відповіді або рідкісних серйозних побічних реакцій, що вимагають клінічного втручання. Широкий асортимент МАТ, що знаходяться на стадії розробки, та МАТ, затверджених для різних клінічних показань, не дозволяє розробити специфічні керівництва, які б були застосовні до усіх ситуацій.

2. СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Загальні принципи, подані та розглянуті у цій настанові, стосуються розвитку та систематичної оцінки небажаної імунної відповіді на застосування

терапевтичних або *in vivo* діагностичних МАТ у пацієнтів. Ця настанова застосовується до МАТ, їхніх похідних та продуктів, компонентами яких вони є, наприклад, кон'югати, Fc-зв'язані гібридні протеїни.

У цій настанові розглядаються основні якісні та клінічні аспекти, що мають важливе значення для адекватного розв'язання проблем з виявленням та оцінкою ризиків, пов'язаних з розвитком небажаної імунної відповіді у пацієнта на специфічне МАТ при певному клінічному показанні.

Ця настанова призначена для продуктів, що знаходяться на заключній стадії розробки (наприклад, стадії формування реєстраційного досьє). Тим не менше багато принципів, викладених у цій настанові, застосовні для більш ранніх стадій розробки.

3. ЗАКОНОДАВЧА БАЗА

Ця настанова застосовується разом з частиною II додатка 1 до директиви 2001/83/ЄС та розділом X наказу № 3^N [1].

Разом з вимогами вищенаведених нормативних актів слід враховувати положення наступних керівництв ЕМА та настанов СТ-Н МОЗУ^N:

CHMP/437/04 «Guideline on similar biological medicinal products» (Керівництво з подібних біологічних лікарських препаратів).

EMA/CHMP/BWP/42832/2005 «Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues» (Керівництво з подібних біологічних лікарських препаратів, що містять в якості активної речовини протеїни, отримані біотехнологічним шляхом: неклінічні та клінічні питання).

EMA/CHMP/BWP/157653/07 «Guideline on development, production, characterisation and specifications for monoclonal antibodies and related substances» (Керівництво з розробки, виготовлення, характеристики та специфікацій на моноклональні антитіла та супутні речовини).

Настанова СТ-Н МОЗУ «Лікарські засоби. Розробка, виробництво, характеристика та специфікації моноклональних антитіл та супутніх продуктів».

ICH guideline S6 (R1): «Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals» (EMA/CHMP/ICH/731268/1998) (Доклінічна оцінка безпеки лікарських препаратів, отриманих біотехнологічним шляхом)

EMA/CHMP/BMWP/14327/06 «Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins» (Керівництво з оцінки імуногенності терапевтичних протеїнів, отриманих біотехнологічним шляхом).

European Pharmacopeia monograph on monoclonal antibodies (Європейська фармакопея. Монографія щодо моноклональних антитіл)

Державна фармакопея України. Моноклональні антитіла для застосування людиною^N

EMA/CHMP/BMWP/101695/2006 «Guidelines on comparability of biotechnology-derived medicinal products after a change in the manufacturing process: non-clinical and clinical issues» (Керівництво з порівняльності біотехнологічних лікарських засобів після зміни у процесі виробництва: доклінічні та клінічні питання).

EMA/CHMP/EWP/192217/2009 «Guideline on bioanalytical method validation» (Керівництво з валідації біоаналітичного метода).

Good Vigilance Practice (Належна практика з фармаконагляду).

4. ПРОБЛЕМИ, ЩО ВИНИКАЮТЬ ПРИ СКРИНІНГУ ТА У ПІДТВЕРДЖУВАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ, ЯКІ ЗАСТОСОВУЮТЬСЯ В ОЦІНЦІ ІМУНОГЕННОСТІ МАТ

4.1. Методи аналізу для виявлення антитіл

У принципі будь-який формат імуноаналізу можна застосовувати для визначення антитіл до МАТ. Однак методи аналізу, що застосовуються для виявлення антитіл до МАТ, часто більш складні та можуть бути технічно складними. Багато стандартних форматів кількісного аналізу включають застосування антиімуноглобулінових реагентів, таких як антитіла до імуноглобулінів, протеїну А або протеїну G, але вони не підходять для використання при виявленні антитіл до МАТ, оскільки реагенти дуже часто зв'язуються із самим продуктом. Таким чином, наприклад, прості методи ІФА та методи радіоімунної преципітації зазвичай не придатні для застосування з МАТ, якщо тільки вони не адаптовані для вирішення цієї проблеми. Саме тому для МАТ слід розробити різні підходи до кількісного аналізу. Загальноприйнятним підходом є застосування формату «прямого зв'язування», наприклад, для ІФА або електрохемілюмінесцентних аналізів (ЕХЛА), які не вимагають застосування антиімуноглобулінових реагентів та, таким чином, можуть безпосередньо застосовуватися для досліджень МАТ. У деяких випадках ця процедура може бути менш чутливою, ніж інші методи імуноаналізу, та може вимагати значних зусиль для розробки придатного методу аналізу. Також цей підхід не ефективний для виявлення антитіл до IgG₄, які можуть утворюватися у деяких випадках.

Інший підхід полягає у застосуванні методу поверхневого плазмонного резонансу (ППР): він не вимагає використання антиімуноглобулінових реагентів для виявлення антитіл до МАТ. Аналіз проводиться у режимі реального часу і, отже, є швидкодіючим і дозволяє також виявляти антитіла, що швидко дисоціюють, які можна не виявити при застосуванні інших методів. Однак, оскільки ППР виявляє тільки зв'язування протеїну з покриттям чіпа, необхідне обов'язкове підтвердження, що сигнал викликаний саме антитілами. Цей метод може бути менш чутливим, ніж інші методи для виявлення високоафінних антитіл, та за відсутності автоматизованих систем відбору проб може мати низьку продуктивність.

Зразки (зазвичай сироватка або плазма) можуть містити речовини, що перешкоджають кількісним аналізам, тобто матричні ефекти яких можуть давати помилкові позитивні або негативні результати та/або некоректну оцінку вмісту антитіл. Добре відомими прикладами таких речовин, що заважають визначенню, є компоненти комплементу, протеїн, що зв'язується з манозою, Fc-рецептори, розчинні молекули-мішені, рецептор комплементу 1 та ревматоїдні фактори, але інші речовини, включаючи сам продукт, також можуть спричиняти подібні проблеми. Часто кількісні аналізи слід «пристосовувати» для зменшення артефактів та досягнення прийнятного рівня фонового сигналу, чутливості та специфічності. Заявники повинні обґрунтувати придатність обраного підходу, враховуючи обмеження відповідних методів.

4.2. Наявність продукту МАТ у зразках для аналізу

Інтактні продукти МАТ мають відносно довгий період напіврозпаду та зберігаються у кровообігу протягом тривалого часу. Навіть фрагменти можуть зберігатися у крові протягом декількох днів. Присутність продукту МАТ у зразках, що відібрані для аналізу антитіла, може викликати значні проблеми при визначенні імунної відповіді. Як правило, це призводить до артефактно-низької оцінки вмісту антитіл в уражених зразках та може бути настільки вираженою, що дасть помилкові негативні результати. Для подолання цієї проблеми було запропоновано декілька підходів.

Один з можливих варіантів – відкласти відбір зразків до тих пір, поки рівень МАТ продукту не стане достатньо низьким, щоб не спричиняти проблеми. Вважається, що цей спосіб може розв'язати проблему з деякими МАТ продуктами, але він вимагає ретельної оцінки, оскільки на момент відбору зразків кількість індукованих антитіл може знизитися до рівнів, які не будуть виявлятися.

Інший підхід полягає у застосуванні методології, при якій вплив МАТ продуктів мінімальний. Деякі ЕХЛ-імуноаналізи меншою мірою піддаються впливу залишкового продукту у зразках, ніж інші методи, включаючи традиційний прямий ІФА. Звичайно для усунення цієї проблеми застосовують включення до

дизайну аналізу попередньої стадії дисоціації комплексів антиген–антитіло, щоб до виявлення антитіла будь-які присутні комплекси було зруйновано. Різні варіанти цього аналізу можуть включати інкубації з кислотою, іноді у поєднанні з афінним виділенням продукту, але їх слід ретельно оцінювати для демонстрації того, що додаткові стадії не зробили аналіз неефективним. Останній можливий варіант полягає у розведенні зразків таким чином, щоб залишковий продукт був присутнім у кількості, недостатній для перешкоджання аналізу. Цей підхід вимагає обережності, оскільки він може призвести до помилкової негативної оцінки імуногенності, якщо застосовуваний метод аналізу недостатньо чутливий для виявлення антитіл у розведених зразках. У деяких випадках може виникати необхідність проведення аналізу зразків на вміст залишкових МАТ. У багатьох випадках при розробці, валідації та тестуванні методу анти-МАТ застосовується комбінація усіх трьох підходів для зменшення впливу продукту.

4.3. Підтверджувальні аналізи

При проведенні підтверджувальних аналізів можуть виникати такі самі проблеми, як і при скринінгових дослідженнях. Важливо вибрати відповідний підтверджувальний аналіз із врахуванням характеристик скринінгового дослідження. Щоб продемонструвати, що позитивна відповідь спричинена імуноглобуліном, у підтверджувальних аналізах можна застосовувати протеїн А та протеїн G; але також можна застосовувати інші підходи.

4.4. Контроль

Створення сироваток позитивного контролю є, як правило, критичною проблемою досліджень імуногенності МАТ. Вибір сироватки позитивного контролю або очищеного антитіла має важливе значення для контролю чутливості та специфічності аналізу. Якщо людська сироватка недоступна (що можливо на ранніх стадіях розробки продукту), єдиним вибором є застосування сироватки тварин. Вибір видів тварин для цієї мети має серйозні наслідки. У нелюдиноподібних приматів розвивається сильна анти-CDR та антиструктурна відповідь проти людських або гуманізованих МАТ, яка може з великою точністю імітувати відповідь людини та може бути відповідним позитивним контролем. Однак інші види тварин зазвичай виробляють антитіла головним чином до константних ділянок МАТ, які є нетиповими для відповіді людини. Застосування антиідіотипової антисироватки або МАТ може у деяких випадках забезпечити правильний позитивний контроль. Вибір відповідного негативного контролю має важливе значення. У підтверджувальних аналізах для підтвердження специфічності можна застосовувати зразки з додаванням сторонніх МАТ.

5. ОЦІНКА НЕЙТРАЛІЗУЮЧОЇ ЗДАТНОСТІ АНТИТІЛ ДО МАТ

МАТ проявляють свою активність за допомогою різних механізмів – від простого зв'язування з антигеном, який один опосередковує клінічний ефект, до зв'язування з антигеном та опосередкування одного або більше імунобіологічних

механізмів, які сумісно формують клінічну відповідь. Тому, хоча просте зв'язування може представлятися єдиним механізмом, що призводить до досягнення клінічної ефективності, інші ефекти можуть також брати у цьому участь. У деяких випадках численні функції МАТ за рахунок адитивної або синергічної дії можуть бути задіяні для отримання загального комбінованого клінічного ефекту, і це може бути важко експериментально проаналізувати, щоб отримати чітке розуміння того, як МАТ опосередковує свою клінічну ефективність. Саме тому при застосуванні інтактних МАТ не слід припускати, що Fc-опосередковані імунобіологічні ефекти продукту не впливають на клінічну ефективність, навіть коли основним механізмом дії вважається просте зв'язування з антигеном. У зв'язку з цим для оцінки нейтралізації антитіл застосування аналізу з використанням клітин має перевагу. У таких випадках необхідно провести ретельну біологічну характеристику МАТ, застосовуючи відповідні біологічні та імунологічні аналізи. Після цього потрібно оцінити властивості МАТ, щоб вибрати відповідну стратегію нейтралізуючого аналізу.

Антитіла, які нейтралізують біологічну активність біологічних продуктів, можуть послаблювати їх клінічну ефективність. Як правило, очікується, що буде вимірюватися нейтралізуюча здатність будь-яких індукованих антитіл. Будь-які відхилення від цього необхідно обґрунтувати. Для більшості біологічних продуктів найбільш доцільним аналізом нейтралізуючих антитіл є біоаналіз, який вимірює нейтралізацію біоактивності препарату антитілами. Однак характер клінічного механізму дії МАТ означає, що індуковані антитіла, які блокують зв'язування МАТ з мішенню, – це ті антитіла, які головним чином пов'язані зі зниженою клінічною ефективністю. Тому методи конкурентного зв'язування з лігандом можуть краще підходити для аналізу нейтралізуючих МАТ, ніж класичні біоаналізи. Це відрізняє МАТ від інших класів біологічних продуктів при оцінці імуногенності.

6. УПРАВЛІННЯ РИЗИКОМ ВИНИКНЕННЯ ІМУНОГЕННОСТІ МАТ

6.1. Ідентифікація ризику

Імуногенність МАТ є складною: існує низка часто недостатньо вивчених факторів, що утруднюють достовірне прогнозування того, чи зможе терапевтичне або діагностичне моноклональне антитіло викликати клінічно значиму імунну відповідь. Сьогодні розроблено доклінічні підходи *in vitro*, направлені на виявлення Т-клітинних епітопів, але вони мають обмежену здатність прогнозувати імуногенність лікарського препарату у людини. Однак такі підходи можуть бути корисними для вибору кандидатів-молекул для подальшої розробки.

Стандартні аспекти імуногенності, що описані у загальному керівництві, слід розглядати щодо кожного нового терапевтичного МАТ, враховуючи його характеристики, передбачене застосування та терапевтичні показання.

Попередні дані про імуногенність, отримані на ранніх етапах клінічних досліджень, можуть надати інформацію, корисну для планування наступних досліджень, наприклад, для вивчення ефективності біоаналізів, визначення вже наявних антитіл або інших факторів, які можуть завадити розпізнаванню антитіл до МАТ, що утворилися під час лікування. Ґрунтуючись на ідентифікації ризику та стратегії оцінки, описаній нижче, стандартна програма визначення імуногенності може бути скорочена за ретельного обґрунтування, або її треба інтенсифікувати відповідно до рівня виявленого ризику. Заявник завжди повинен представляти детальну ідентифікацію ризику, що враховує властивості препарату разом з його запланованим застосуванням.

а) Попередні дані

Важливим чинником є наявність або відсутність даних щодо інших подібних МАТ (наприклад, з того самого цільового класу, що експресується у тій самій системі експресії). Ступінь ризику може бути вищим, якщо методика визначення антитіл до МАТ або виявлення клінічних наслідків (наприклад, залишкова концентрація МАТ, параметри ФД та відповідь на лікування МАТ) недостатньо чутлива. У таких випадках слід розглянути застосування більш детального моніторингу динаміки відповіді на МАТ щодо терапевтичного ефекту.

б) Структура МАТ

В принципі антитіла можуть вироблятися проти різних епітопів, наявних на різних частинах молекули МАТ, наприклад, на варіабельній або константній області. У випадку з гетерологічними МАТ, наприклад, з послідовністю гризунів або химерних МАТ, розпізнавання антитіла як чужорідного є головним завданням гуморального імунітету, та антитіла можуть утворюватися до будь-якої частини молекули. У разі гуманізованих МАТ або МАТ з людською послідовністю імунна відповідь є переважно антиідіотиповою (оскільки ділянки, що визначають комплементарність, мають гіперваріабельну послідовність), що може поставити під загрозу клінічну відповідь на МАТ. Проте у деяких випадках антитіла можуть утворюватися до константної області людського або гуманізованого МАТ та це може вплинути на ефекторні функції МАТ з потенційними наслідками для клінічної відповіді. Досвіду клінічного застосування нових конструкцій, заснованих на МАТ, накопичено ще менше, і це може збільшити ступінь ризику. Окрему увагу необхідно приділити продуктам наступного покоління, наприклад, біспецифічним МАТ або фрагментам МАТ, та їх здатності виявляти приховані антигенні детермінанти.

Зміна характеру глікозилювання може зменшити або збільшити імуногенні властивості молекули (наприклад, зміна у захисті протеїнового каркасу). Нетиповий характер глікозилювання, наприклад, який зустрічається при застосуванні зовсім нових систем експресії, може підвищувати ризик імуногенності у порівнянні з частіше використовуваними системами експресії.

Інші фактори, що впливають на імуногенність, включають процес-зв'язані домішки та інші характеристики якості. Тому аналітичний та клінічний підхід до оцінки, характеристики та можливого зниження таких потенційних ризиків має бути більш розширеним, а ризики, що пов'язані з якістю препарату, мають бути відповідним чином ідентифіковані.

Наприклад, якщо МАТ до молекули-мішені, щодо яких існує значний попередній досвід застосування, виробляється з використанням нової системи експресії, то ризик щодо його механізму дії може бути відчутно меншим, але ризик щодо потенційного впливу домішок на безпеку може бути вищим, якщо досвід щодо їхнього впливу на безпеку невеликий.

в) Механізм дії

Механізм дії МАТ (наприклад, цитолітичний, апоптичний), особливо природа молекули-мішені (наприклад, імуносупресія, імуностимуляція), потребує достовірної характеристики та досконалого дослідження. Імунна відповідь на МАТ, направлена на їхній ідіотип, зазвичай призводить до зменшення їх ефективності. Подібним чином слід уважно розглянути вплив антитіл на МАТ, що розпізнають алотипові або інші області, оскільки утворення імунних комплексів може спричинити у пацієнтів небажані ефекти.

Непряма дія антитіл, індукованих МАТ, також може мати важливе значення, наприклад, не можна виключати, що МАТ, націлені на молекули, залучені до сигнальних каскадів, можуть індукувати антитіла, які перехресно реагують з молекулами-мішенями як агоністи, що може призвести до посиленої активації імунної системи та надлишкового вивільнення цитокінів. Це може бути важко прогнозувати для кожного окремого пацієнта. На ранніх етапах клінічних досліджень агоністичних МАТ або МАТ, чий перехресний зв'язок з молекулою-мішенню може теоретично призвести до активації імунітету, заявники повинні уважно спостерігати за пацієнтами, щоб відслідкувати виникнення таких явищ.

г) Клінічні фактори

Клінічні фактори виявляють значний вплив на імуногенність. Імуногенність МАТ може бути пов'язана з віковими аспектами: наприклад, протеїновий обмін у дітей відрізняється від такого у дорослих, і це може бути причиною відмінностей у імуногенності, наприклад, для МАТ, що використовуються для лікування ювенільного артрити та ревматоїдного артрити у порівнюваних дозах. Попереднє лікування подібним або спорідненим МАТ може також впливати на імуногенність. Терапевтичні антитіла, що використовуються в переривчастих схемах лікування, мають вищу імовірність виникнення імуногенності, ніж при застосуванні за регулярною та повторною схемою лікування.

Наявність клінічно значимих ефектів у антитіл до МАТ залежить від ділянки зв'язування антитіла, афінності антитіла щодо МАТ та титру антитіл, що

утворилися. Антитіла до МАТ можуть утворюватися тимчасово і потім зникати під час лікування або, навпаки, зберігатися протягом всього процесу лікування чи довше. При деяких схемах лікування МАТ утворення специфічних для них антитіл не має очевидних небажаних клінічних наслідків, але при інших – знижує ефективність терапії МАТ або спричиняє небажані явища, пов'язані з лікуванням.

6.2. Оцінка ризику

У формуванні імунної відповіді на МАТ беруть участь численні фактори, які слід враховувати при оцінці ризику.

Фактори, що впливають на частоту виникнення та вираженість імунної відповіді на МАТ (фактори ризику, пов'язаних з продуктом, процесом, пацієнтом/захворюванням), можуть формувати основу підходу, коли ці фактори ризику співставляють з можливістю та доцільністю оцінки (або ідентифікації) ризику та стратегіями по зменшенню ризику.

Ідентифікація ризику на основі вищезазначених факторів призводить до оцінки, яка об'єднує окремі ризики у клінічному контексті та відповідним чином розроблену програму з оцінки імуногенності в рамках клінічної розробки. Оцінка ризику вимагає багатопланового підходу з урахуванням усіх виявлених ризиків (наприклад, пов'язані зі стратегією контролю якості продукту, включаючи композицію продукту, обґрунтування допустимих меж для продукту, продукт-зв'язаних варіантів та процес-зв'язаних домішок). Це також передбачає, що загальна оцінка ризику повинна бути зв'язана з будь-якими дослідженнями порівняльності, що виконуються під час розробки, у разі впровадження зміни до МАТ на різних етапах розробки продукту.

Отже, ключовим аспектом оцінки ризику є оцінка частоти виникнення небажаної імунної відповіді та її клінічних наслідків, а також можливість запобігти, відповідно оцінити такі наслідки та/або надати медичне лікування для їх усунення. Залежно від виявленого ризику та наявних заходів для моніторингу та зменшення цього ризику програма дослідження імуногенності може бути меншою або більшою за програму, описану в загальному керівництві. У будь-якому разі заявник повинен обґрунтувати свій підхід.

Залежно від класу та підкласу МАТ (що впливає на імунобіологічні функції, наприклад, зв'язування з Fc-рецепторами) або механізму дії не всі окремі продукти МАТ можуть мати однакові клінічні наслідки, пов'язані з небажаною імунною відповіддю. Наприклад, МАТ можуть нейтралізуватися антитілами, у результаті чого знижується їх ефективність або виникають небажані явища, такі як інфузійні реакції та/або утворення імунного комплексу. Такі інфузійні реакції можуть бути серйозними, однак ними можна (на відміну від алергічних реакцій гіперчутливості) потенційно управляти за допомогою відповідних клінічних заходів, таких як застосування премедикації. Подібним чином у разі втрати

ефективності наявності інших МАТ або споріднених терапевтичних протеїнів як альтернативних методів лікування можуть бути важливим фактором для стратегії зменшення ризику. Відповідно до загальних керівних принципів, заявник має надати достатню кількість даних для оцінки ступеня вираженості, частоти виникнення і виявлення ризиків на момент подання реєстраційного дощу.

Надалі, за необхідності, ймовірність виникнення цих ризиків потрібно буде додатково підтверджувати післяреєстраційним наглядом та моніторингом.

Відправною точкою для оцінки та зменшення ризику можуть бути використані такі фактори:

- Стратифікація ризику на основі принципів ідентифікації ризику, як обговорювалося у попередньому розділі, у комбінації з продукт-зв'язаними факторами, такими як, наприклад, ідентифікація внутрішніх імуногенних мотивів, фізико-хімічний профіль, включаючи агрегати або інші продукт-зв'язані або процес-зв'язані варіанти, інформацією з розробки композиції щодо, наприклад, розчинності при фізіологічному рН, місцеположення цільового антигена тощо.
- Деталі проведення аналізів, розглянуті у цій настанові, особливо ступінь ризику, якому піддається чутливість обраного формату виявлення антитіл до МАТ внаслідок впливу залишкового циркулюючого продукту.
- У випадку неминучих недоліків аналітичних процедур – наявність заходів, які можуть доповнювати моніторинг антитіл до МАТ, наприклад, визначення ФД або ФК параметрів.
- Наявність методів визначення ранньої імунної відповіді (наприклад, раннє виявлення зв'язування МАТ, виявлення IgM для визначення ранньої імунної відповіді).
- Уразливість популяції пацієнтів; терапевтичний індекс; аутоімунний статус, використання імуносупресивного супутнього лікування тощо.
- При онкологічних захворюваннях виявити втрату відповіді важче, ніж при інших клінічних станах, оскільки буває важко встановити взаємозв'язок між прогресуванням пухлини та утворенням антитіл; прогресування захворювання та наступна втрата відповіді на терапію, як правило, спостерігається практично у всіх пацієнтів через певний час і може бути проблематичним розрізнити це з ефектами, обумовленими антитілами. Таким чином під час клінічних досліджень може знадобитися більш інтенсивне потребуватися, щоб оцінити, яку відповідь слід очікувати у післяреєстраційний період, особливо за наявності терапевтичних альтернатив.
- Застосування МАТ у домашніх умовах або в умовах стаціонару: лікування МАТ в умовах стаціонару може мати переваги при виникненні інфузійних

реакцій або анафілаксії, оскільки у стаціонарі їх можна негайно послабити, але застосування підшкірного введення МАТ у домашніх умовах може бути зручнішим для догляду за пацієнтом. Таким чином, заявники повинні зважити ризики небажаних імунних відповідей та їх наслідків при запланованому клінічному використанні. Наприклад, МАТ з високою частотою виникнення реакцій після підшкірного введення можуть бути менш прийнятними для використання у домашніх умовах.

- Наявність альтернативного лікування або діагностичних процедур у разі втрати ефективності чи виникнення інфузійних реакцій або анафілаксії.

6.3. Моніторинг та зменшення ризику

Виходячи з такого підходу до виявлення та оцінки ризиків, заявники повинні ретельно планувати концепцію з моніторингу та зниження ризиків на ранньому етапі розробки продукту та переглядати і оновлювати її під час розробки та впродовж всього життєвого циклу препарату МАТ, як тільки з'являються нові дані. На початковій стадії клінічної розробки заявники можуть, наприклад, призначити більш високий рівень ризику для МАТ, хоча сам по собі механізм дії не обов'язково передбачає такий високий рівень ризику, але інші фактори цьому сприяють. Рівень ризику в залежності від результатів великих клінічних досліджень треба переглянути. На момент подання реєстраційного досьє заявник повинен ретельно обґрунтувати загальну концепцію дизайну дослідження імуногенності та обсяг випробувань, що використовується під час цього дослідження.

Для продуктів, що мають заявлені особливі переваги щодо імуногенного потенціалу (наприклад, зазначені у короткій характеристиці препарату), як правило, вимагаються належні підтверджуючі дані.

Залежно від результату оцінки ризику в деяких випадках під час клінічних досліджень може бути необхідним проведення більш детальних додаткових випробувань. Наприклад, у деяких випадках, якщо МАТ містить нелюдські вуглеводневі структури, наприклад, галактозу- α -1, 3-галактозу, з метою запобігання серйозній анафілаксії необхідно перед введенням препарату провести визначення вмісту IgE у крові пацієнта. Ще один приклад, коли треба провести аналіз вмісту IgE – висока частота виникнення алергічних реакцій при першому введенні препарату на ранньому етапі його клінічної розробки. Незважаючи на те, що вимірювання рівнів підкласів IgG або інших класів Ig, наприклад Ig A, зазвичай не є стандартною вимогою для оцінки імуногенності МАТ, воно може стати необхідним, якщо були визначені певні ризики (наприклад, при назальному введенні). Проте, як правило, вимагається визначення нейтралізуючої здатності транзиторних МАТ у порівнянні з постійними МАТ при повторному відборі зразків.

Частота та своєчасність відбору проб і проведення аналізу можуть змінюватися залежно від визначеного рівня ризику. Для МАТ з низьким рівнем ризику можна знизити частоту відбору проб на пізніших етапах розробки за умови, що не спостерігалось побічних явищ або зниження ефективності. Однак, зберігати зразки необхідно протягом усієї програми розробки. Такий підхід повинен бути належним чином обґрунтований. Для МАТ з більш високим рівнем ризику відбір проб має бути більш частим протягом усієї клінічної розробки. В цій ситуації може бути доцільним аналізувати зразки в реальному часі. Під час клінічної розробки може бути необхідним вимірювати концентрацію антитіл, ФК та ФД маркери, ефективність та безпеку одночасно та протягом періоду потворних курсів терапії. Це дозволить провести оцінку клінічної значимості утворення антитіл, а також зміни ефектів антитіл з часом, що може статися в результаті збільшення титру та/або переключення ізотипа/дозрівання афінності антитіл в ході формування імунної відповіді. Антитіла до МАТ, що не мають нейтралізуючих властивостей, можуть опосередковано вплинути на ефективність, зв'язуючись з продуктом МАТ та впливаючи на його фармакокінетичні властивості. Тому вимірювання ФК параметрів може виявитися корисним при плануванні визначення імунної відповіді на введені МАТ.

Інформація, отримана при проведенні аналізів, може використовуватися для управління ризиками. Наприклад, якщо при ідентифікації та оцінці ризику підтверджується необхідність ранньої ідентифікації імунної відповіді і можливе припинення лікування МАТ, утворення низькоафінних антитіл до IgM може бути індикатором ранньої імунної відповіді, вимірювання IgM-відповідей може допомогти в ранньому виявленні пацієнтів з імунною відповіддю, що посилюється. Подібним чином, виявлення зв'язування антитіл, що не мають нейтралізуючих властивостей, може бути раннім проявом пізнього утворення нейтралізуючих антитіл.

Стратегії зменшення ризику можуть, наприклад, включати вивчення питань щодо ефективного ведення пацієнтів, у яких розвинулася імунна відповідь, наприклад, щодо можливості збільшення дози без загрози безпеці пацієнта тощо. Однак, важливо враховувати доцільність таких дій.

У реєстраційному досьє заявникам рекомендується представляти комплексне резюме своєї стратегії щодо ідентифікації, характеристики, моніторингу мінімізації та усунення ризиків. Підхід на основі оцінки ризику слід також включити до Плану управління ризиками (ПУР) із зазначенням заходів з управління ризиками, ідентифікованими за даними програми розробки, потенційними ризиками у післяреєстраційний період або у разі відсутності інформації.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ДОДАТОК**(довідковий)****БІБЛІОГРАФІЯ**

1. Наказ МОЗ України від 26.08.2005 № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення» у редакції наказу МОЗ України від 04.01.2013 № 3, зареєстрованого у Міністерстві юстиції України 15 березня 2013 р. за № 425/22957.
2. EMEA/CHMP/BMWP/86289/2010 «Guideline on immunogenicity assessment of monoclonal antibodies intended for in vivo clinical use, 24 May 2012» (Керівництво з оцінки імуногенності моноклональних антитіл, призначених для клінічного застосування *in vivo*, 24 травня 2012).
3. ДСТУ 1.5-2003. – Національна стандартизація. Правила побудови, викладання, оформлення та вимоги до змісту нормативних документів/І. Аширова, О. Брянська, Є. Козир, Я. Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
4. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-1.0:2005. – Фармацевтична продукція. Система стандартизації. Основні положення/М. Ляпунов, В. Георгієвський, Т. Бухтіарова та ін. – Київ, МОЗ України, 2005.
5. ДСТУ 1.7-2001. – Національна стандартизація. Правила і методи прийняття та застосування міжнародних і регіональних стандартів/О. Одноколов, В. Тетера, Я. Юзків. – Київ, Держспоживстандарт України, 2003.
6. EMEA/P/24143/2004 «Procedure for European Union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework, 2005» (Процедура щодо керівництв та супутніх документів Європейського Союзу в рамках фармацевтичного законодавства, 2005).

Ключові слова: імуногенність, моноклональні антитіла, подібні біологічні лікарські препарати, клінічне застосування, стратегія контролю.