



Особенности дизайна доклинических исследований препаратов генной терапии *in vivo*. Часть 2: фармакокинетические и токсикологические исследования

©О.А. Рачинская*, Е.В. Мельникова, В.А. Меркулов

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия

* О.А. Рачинская, Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Rachinskaya@expmed.ru

Поступила в редакцию 27 мая 2025 г. Исправлена 4 июля 2025 г. Принята к печати 25 августа 2025 г.

Резюме

Статья посвящена особенностям дизайна доклинических исследований генотерапевтических лекарственных препаратов *in vivo*, основанных на введении векторов с рекомбинантными нуклеиновыми кислотами в организм пациента для коррекции генетических нарушений и терапии онкологических заболеваний. В настоящей работе отмечаются основные аспекты проведения фармакокинетических и токсикологических исследований, выявленные в результате анализа экспертных отчётов мировых производителей генотерапевтических лекарственных препаратов и затрагивающие такие вопросы, как выбор дозы и способа введения препарата; выявление специфических исследований, характерных для всех *in vivo* генотерапевтических лекарственных препаратов и обоснование перечня исследований для препаратов с разными видами векторов; продолжительность исследований и выбор адекватных моделей для демонстрации безопасности продукта и выявления возможных нежелательных явлений от его применения.

Ключевые слова: генотерапевтические лекарственные препараты, доклинические исследования, фармакокинетические исследования, токсикологические исследования, вектор, трансген

Цитировать: Рачинская О.А., Мельникова Е.В., Меркулов В.А. Особенности дизайна доклинических исследований препаратов генной терапии *in vivo*. Часть 2: фармакокинетические и токсикологические исследования. *Иновационная медицина Кубани*. 2026;11(1):148–156. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2026-11-1-148-156>

Design Features of Nonclinical Studies for *In Vivo* Gene Therapy Medicinal Products. Part 2: Pharmacokinetic and Toxicological Studies

©Olga A. Rachinskaya*, Ekaterina V. Melnikova, Vadim A. Merkulov

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russian Federation

* Olga A. Rachinskaya, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Petrovskii bulvar 8/2, Moscow, 127051, Russian Federation, Rachinskaya@expmed.ru

Received: May 27, 2025. Received in revised form: July 4, 2025. Accepted: August 25, 2025.

Abstract

The article focuses on the specific design features of nonclinical studies (NCS) of *in vivo* gene therapy medicinal products which involve the administration of vectors with recombinant nucleic acids into the patient's body for the correction of genetic disorders and treatment of oncological diseases. This work highlights the key aspects of conducting pharmacokinetic and toxicological studies, identified through the analysis of expert reports from global gene therapy medicinal products manufacturers. These aspects include dose selection and route of administration; identification of specific studies applicable to all *in vivo* gene therapy medicinal products and the justification of study lists for products using different types of vectors; as well as duration of studies and the selection of appropriate models to demonstrate product safety and to detect potential adverse effects associated with their use.

Keywords: gene therapy products, nonclinical studies, pharmacokinetic studies, toxicological studies, vector, transgene

Cite this article as: Rachinskaya OA, Melnikova EV, Merkulov VA. Design features of nonclinical studies for *in vivo* gene therapy medicinal products. part 2: pharmacokinetic and toxicological studies. *Innovative Medicine of Kuban*. 2026;11(1):148–156. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2026-11-1-148-156>



Введение

В настоящее время отсутствует комплексный и подробный подход к нормативным требованиям и дизайну к программам доклинических исследований (ДКИ) *in vivo* генотерапевтических лекарственных препаратов (ГТЛП), учитывая широкий спектр генной терапии, относительно небольшой опыт работы с этими продуктами, а также быстрое развитие молекулярно-генетических технологий, являющихся основными инструментами разработки, производства и тестирования ГТЛП. Поэтому в каждом отдельном случае необходимо обосновывать применимость конкретной стратегии, касающейся, главным образом, количества, перечня, продолжительности исследований, использования различных моделей и видов животных.

Фармакокинетическое изучение генетически-терапевтических лекарственных препаратов *in vivo* должно включать исследование их биораспределения (оценку накопления, продолжительности присутствия и выведения), оценку риска наследственного переноса мутаций и выделение активных веществ в окружающую среду. Важно также исследовать фармакокинетику отдельных элементов конструкции препарата или его составных частей, если это актуально для конкретной разработки. Обычно целесообразна интеграция фармакокинетических исследований с токсикологическим изучением препарата [1]. Объем необходимых токсикологических испытаний зависит от характеристик распространения препарата в тканях лабораторных животных и может меняться соответственно этому профилю [2].

Главной целью токсикологических исследований является оценка безопасности исследуемых лекарственных препаратов, а особенности их проведения для *in vivo* ГТЛП непосредственно связаны с их составом и механизмами действия. Токсикологические исследования *in vivo* ГТЛП включают исследования общей токсичности (при однократном или многократном введении), генотоксичности (нецелевой интеграции в геном, инсерционного мутагенеза и опухолеобразования), иммуногенности и иммунотоксичности, репродуктивной токсичности и местной переносимости. Объем и продолжительность токсикологического исследования должны быть основаны на результатах биораспределения, оценки фармакодинамических профилей, профилей трансдукции и экспрессии трансгена, путей и способов введения [2].

Цель работы

Анализ комплексного подхода к проведению фармакокинетических и токсикологических исследований препаратов генной терапии *in vivo* на основе мирового опыта регистрации *in vivo* ГТЛП и соответствующих требований нормативно-правовых актов Евразийского экономического союза.

Подходы к проведению фармакокинетических исследований и исследований биораспределения

В рамках фармакокинетических исследований должны осуществляться исследования биораспределения, персистенции, клиренса ГТЛП и выделения, которые могут быть объединены с ДКИ токсикологии. Основные аспекты проведения фармакокинетических исследований [1]:

- Дозы препарата должны значительно превышать используемые в клинике (обычно десятикратно).

- Наряду со способом введения препарата, используемым в клинике, могут потребоваться исследования с системным введением.

- Необходимо проведение анализа всех релевантных органов и тканей на присутствие в них последовательностей вектора и/или трансгена и длительность экспрессии целевого гена, независимо от того, являются ли эти органы мишенями для используемого вектора.

- Для выявления риска передачи по зародышевой линии необходимо проведение анализа присутствия вектора и/или трансгена в гонадах самцов (семенниках и семенной жидкости) и/или самок (яичниках).

- Для выявления риска вредного воздействия на окружающую среду необходимо определение профиля секреции или экскреции вируса (вектора).

Согласно мировому опыту регистрации *in vivo* ГТЛП, основное внимание уделяется исследованиям биораспределения, в рамках которого проводят выявление присутствия вектора или продуктов экспрессии трансгена, их персистенции и пути распространения в тканях и биологических жидкостях организма животного, указанных в Руководстве ICH S12 [3]. Дополнительно могут быть включены ткани, представляющие особый интерес (например, ганглии дорсальных корешков для препаратов с ААВ) [4]. Сокращение перечня тканей возможно при наличии данных об опыте использования этого вектора (вирусный вектор того же серотипа или невирусный вектор того же состава), изготовленного с помощью производственного процесса, производящего материал аналогичного качества и вводимого аналогичным способом в той же дозе. Дополнительные исследования биораспределения могут быть проведены с целью оценки рисков воздействия продукта (особенно репликационно компетентного вируса (РКВ)) на медицинский персонал или окружающую среду [5].

Исследования биораспределения могут проводиться как с использованием модели заболевания, так и на здоровых животных. Если данные о биораспределении используются для интерпретации результатов токсикологии или разработки стратегий мониторинга безопасности у пациентов, то обычно оценивается самая высокая доза, испытанная в токсикологическом

Таблица 1

Исследования биораспределения препаратов, содержащих аденоассоциированный вирусный вектор
Table 1
Biodistribution studies of products containing adeno-associated viral vector

Zolgensma [6]	На новорожденных мышях дикого типа (совмещены с токсикологией). Период наблюдения: 6 и 3 мес. Внутривенное введение. Целевой препарат. При разных дозах оценивали экспрессию гена с помощью цифровой ПЦР в различных тканях (скелетные мышцы, печень и лёгкие, головной и спинной мозг, селезёнка гонады) на разных сроках после введения препарата
Luxturna [7]	Местное введение целевого препарата яванским макакам и гомологичного препарата собакам. Однократная доза. Период наблюдения: 3 мес. Число копий вектора в извлечённых тканях определялось методом кПЦР
Upstaza (Kebilidi) [8]	На крысах (совмещено с токсикологией). Местное введение. Исследование экспрессии трансгена методом ОТ-ПЦР и кПЦР в разных отделах ЦНС (релевантная ткань), крови или спинномозговой жидкости. Разные дозы. Период наблюдения: 6 мес. 2 исследования на яванских макаках. Однократное местное введение. Исследование распределения трансгена в соседние отделы мозга
Roctavian [9]	18 завершённых исследований (по большей части совмещённые с исследованиями фармакологии) на иммунодефицитных мышях с моделью заболевания и здоровых мышях дикого типа, макаках-резус дикого типа. Анализ экспрессии трансгена (в том числе анализ клиренса ДНК и РНК) методом кПЦР. Анализ стабильности линейной и кольцевой форм ДНК. Однократное внутривенное введение. Период наблюдения: до 6 мес.
Glybera [10]	5 исследований распределения на кошках, мышях и кроликах. Анализ обнаружения векторной ДНК в месте инъекции (мышца) и других тканях (печень, селезёнка и паховые лимфатические узлы). У котят: в яичках, придатках яичек и сперматозоидах. Анализ дозозависимой экспрессии трансгена на мышцах
Hemgenix [11]	На мышях. Период наблюдения: 13 недель. Доза максимально высокая. Внутривенное введение. Целевой препарат. Анализ присутствия ДНК вектора в печени, надпочечниках, сердце, почках и селезёнке, плазме крови. На самцах нечеловекообразных приматов. Период наблюдения: 26 недель. Дозы высокие. Целевой препарат. Анализ уровня ДНК вектора в печени, надпочечниках, спинном мозге и других тканях, в том числе в гонадах в зависимости от дозы
Elevidys [12]	Два исследования на мышях дикого типа и с моделью заболевания. Период наблюдения: 12 недель и 6 мес. Однократное внутривенное введение двух доз. Анализ системного распределения вектора в печени, надпочечниках, сердце, мышцах и коже, ЖКТ, ЦНС и других тканях, в том числе гонадах

Прим.: ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; кПЦР – количественная ПЦР; ОТ-ПЦР – ПЦР с обратной транскрипцией; ПЦР – полимеразная цепная реакция; ЦНС – центральная нервная система

Note: ЖКТ, gastrointestinal tract; кПЦР – quantitative polymerase chain reaction; ОТ-ПЦР, reverse transcriptase-polymerase chain reaction; ПЦР, polymerase chain reaction; ЦНС, central nervous system

исследовании [3]. Примеры дизайна исследований биораспределения ГТЛП на основе ААВ представлены в таблице 1.

Обычно простого обнаружения ДНК вектора в процессе исследования биораспределения достаточно. Однако для некоторых вирусов, например, таких как вирус простого герпеса, которые обладают способностью передачи потомству от матери, может быть оправдана дополнительная оценка биораспределения с использованием беременных животных, как описано в экспертном отчете FDA препарата imlygic [13].

Всесторонние исследования фармакокинетики были проведены с целью регистрации в Японии препарата collatogene на основе плазмидного вектора, и содержат исследования поглощения (абсорбции), биораспределения, метаболизма и выделения (табл. 2). Концентрация плазмиды в крови, моче и тканях животных определялась кПЦР. Для анализа метаболитов плазмиды использовался Саузерн-блоттинг. Риск интеграции плазмиды в половые клетки был оценен на основе теоретических и литературных данных.

Таблица 2
Исследования фармакокинетики препарата collatogene [14]
Table 2
Pharmacokinetic studies of collatogene [14]

<p>I. Поглощение (абсорбция) <i>In vivo</i>: Анализ динамики концентрации в крови после однократной внутримышечной или внутривенной инъекции у крыс (самцы и самки линии SD, возраст 9 недель). Анализ динамики концентрации в крови после 2-х внутримышечных инъекций с интервалом в 1 мес. у крыс (самцы и самки линии SD, возраст 9 недель). Анализ динамики концентраций в крови после однократной внутримышечной инъекции самцам яванских макак (возраст 3–5 лет)</p>	<p>II. Биораспределение <i>In vivo</i>: Распределение плазмиды в тканях после однократной внутримышечной инъекции у крыс (самцы и самки линии SD, возраст 9 недель). Период наблюдения: 1 неделя для анализа концентрации в тканях и 3 мес. – в месте введения. Распределение плазмиды в тканях после однократной внутривенной инъекции у крыс (самцы и самки линии SD, возраст 9 недель). Период наблюдения: 1 неделя. Преодоление гематоплацентарного барьера при однократной внутримышечной инъекции беременным крысам линии SD</p>
<p>III. Метаболизм <i>In vitro</i>: анализ скорости метаболизма плазмиды при добавлении ее к сыворотке человека или крысы <i>In vivo</i>: Анализ метаболитов в крови крыс в течение 4 или 8 ч после однократной внутримышечной инъекции</p>	<p>IV. Выделение <i>In vivo</i>: определение концентрации плазмиды в моче самцов и самок крыс после однократной внутривенной инъекции</p>

Токсикологические исследования: виды, продолжительность, определяемые параметры

Для ДКИ безопасности актуальными вопросами неопределённости являются: продолжительность исследований с учётом потенциальных острых, хронических и/или отсроченных реакций и потенциал разрешения токсичности. Согласно European Medicines Agency, при проведении токсикологических исследований необходимо оценить токсичность как системы доставки, так и продукта(ов) экспрессии трансгена в зависимости от тканевого тропизма, биораспределения и персистенции ГТЛП [1]. Способ введения препарата должен соответствовать применимому в клинике либо отражать системное введение. Выбранные дозы должны обеспечить возможность определения диапазона безопасных доз и кратно превышать клиническую дозу. Для препаратов с многократным введением необходимы дополнительные исследования общей токсичности при повторном введении.

Определяемые параметры в исследованиях общей токсичности зависят от способа введения препарата, органа-мишени, вида заболевания. Продолжительность исследований зависит от персистенции ГТЛП, степени и места экспрессии трансгена, а также ожидаемых потенциальных рисков. В соответствии с требованиями ЕЭК к токсикологическим исследованиям препаратов, предназначенных для лечения тяжелых и жизнеугрожающих заболеваний, может применяться подход, основанный на анализе рисков: допустимо сокращение объёма токсикологических исследований, отказ от проведения или добавление некоторых исследований [15]. Примеры и продолжительность исследований общей токсичности зарегистрированных в мире *in vivo* ГТЛП приведены в таблице 3.

Генотоксичность ГТЛП, оцениваемая в рамках токсикологических исследований, отличается от генотоксичности классических лекарственных препаратов. Интеграция вируса в геном трансдуцированной клетки может представлять риск, связанный с нарушением работы генов, изменением их экспрессии или созданием геномных разрывов/слияний. Для ряда ГТЛП встраивание в геном целевых клеток может быть запланированным событием, тогда как для других продуктов относится к нежелательным явлениям. Так, в случае РКВ с потенциалом геномной интеграции (например, онколитических вирусов), риски инсерционного мутагенеза будут возрастать по мере увеличения вирусной нагрузки [4]. Вирус простого герписа не интегрирует в геном клеток, а ААВ, как правило, находятся в клетке в эписомальной форме, хотя для последних не исключается возможность вирусной интеграции, которая может происходить с низкой частотой (~0,1–0,5% интеграций на инфекционную единицу) и, как правило, является случайной. Поскольку используемые в мировой практике рекомбинантные векторы ААВ не содержат ген *Rep*, у них отсутствует целевая интеграционная способность, в отличие от вируса дикого типа, который обычно интегрирует в хромосому 19, в активно транскрибируемые участки генома и места разрыва ДНК [18].

Нецелевая интеграция в геном клеток, и как следствие, возможный инсерционный мутагенез, который может привести к развитию опухолей, являются специфическими рисками *in vivo* ГТЛП [19]. Так, инсерционный мутагенез, связанный с гепатоцеллюлярной карциномой, был зарегистрирован у мышей после внутривенной инъекции векторов на основе ААВ [20, 21]. Анализ инсерционных участков выявил общий сайт интеграции ААВ в локусах генов *Mirg* и *Rian*

Таблица 3

Параметры и продолжительность исследований общей токсичности препаратов генной терапии *in vivo*

Table 3

Parameters and duration of general toxicity studies of *in vivo* gene therapy medicinal products

	Определяемые параметры	Модели и продолжительность исследований
Zolgensma [6]	Физиологические показатели, показатели крови, аномалии структуры и функции внутренних органов, включая появление признаков воспаления и некроза, нейро- и гепатотоксичности, гистопатологии, смертность животных	Три исследования на неонатальных мышцах дикого типа, 12 или 24 недели. Одно исследование на яванских макаках, 2 недели
Luxturna [7]	Состояние ретикулярного пигментного эпителия, сетчатки, сосудов сетчатки, признаки воспаления, в том числе признаки инфильтрации воспалительных клеток вокруг кровеносных сосудов и в стволе мозга	4 исследования на собаках здоровых или с моделью заболевания, 3 недели или 3 месяца; исследование на яванских макаках, 3 месяца. Исследования токсичности при повторном введении (при однократном введении препарата в каждый глаз)
Beqvez [16]	Клинические признаки и физиологические показатели, показатели крови (включая, образование комплексов ТАГ и D-димера), анатомические и гистологические патологии	Несколько исследований на яванских макаках, от 3 мес. до 2 лет
Glybera [10]	Вес тела и органов, клинические признаки, потребление пищи, некроз, смертность животных, гистопатологии, включая миодегенеративные изменения и признаки воспаления, неоплазии и гепатотоксичность	Два исследования на мышках, 6 мес.
Elevidys [12]	Масса тела, клинические показатели крови, химический состав сыворотки крови, гидроцефалия, смертность животных, гистопатологии	На мышках дикого типа и с моделью заболевания, 6 или 12 мес. На мышках с моделью заболевания, 12 недель
Adstiladrin [17]	Гистопатологические изменения в уретре, мочеточнике и мочевом пузыре, в том числе инфильтрация мононуклеарных клеток, воспаление, гиперплазия и изъязвление уротелия	На яванских макаках, 2 мес.

на хромосоме 12 у мышей, который связан с многочисленными регуляторными последовательностями РНК [22]. Клонообразование, связанное с инсерционным мутагенезом, трансдуцированных клеток печени также наблюдалось у собак с гемофилией А, получивших терапию векторами AAV8 и AAV9, экспрессирующими фактор свертываемости крови VIII собак [23].

Межвидовые различия в вирусном тропизме, особенности конструкции вектора, использование видоспецифичных промоторов и другие факторы, как правило, ограничивают релевантность стандартных моделей грызунов для тестирования канцерогенности. Системы *in vitro* и долгосрочные исследования онкогенности *in vivo* могут помочь в оценке потенциала трансформации и понимании вероятности риска нежелательной пролиферации [4]. Стандартных пожизненных исследований канцерогенности на грызунах

в рамках ДКИ не требуются, а возможность активации онкогенов или изменения скорости клеточной пролиферации следует оценивать на клеточных линиях [1].

Мировая практика рассмотрения регуляторными органами материалов, представленных на регистрацию, свидетельствует о том, что для ряда ГТЛП вывод о рисках может быть сделан на основе теоретического рассмотрения особенностей строения продукта, имеющихся литературных данных и КИ (табл. 4).

В отношении отдельных групп препаратов возможно проведение дополнительных исследований токсикологии. Так, исследования местной переносимости необходимо осуществлять для препаратов с несистемным способом введения (в том числе интрацеребральным) [1]. Оценку местной токсичности возможно производить в рамках общей токсичности и оценивать нежелательные эффекты в месте введения

Таблица 4

Оценка рисков генотоксичности и опухолеобразования для препаратов генной терапии *in vivo*

Table 4

Assessment of genotoxicity and tumorigenicity risks of *in vivo* gene therapy medicinal products

	Нецелевая интеграция/ Инсерционный мутагенез	Опухолеобразование
Zolgensma [6]	Предположение о низком риске из-за эписомальной формы локализации вектора в клетке. Интеграция в геном происходит случайным образом, без предпочтительной интеграции в критические сайты	Анализ пролиферативных изменений и опухолеобразования в рамках исследований фармакологии и токсичности
Luxturna [7]	Предположение о низком риске, исходя из особенностей строения вектора и его тропизма к митотически неактивным клеткам	Анализ образования опухолей в рамках исследований общей токсичности
Roctavian [9]	Анализ сайта интеграции методом TES на образцах печени яванских макаков. Предположение о низком риске из-за эписомальной формы локализации вектора в клетке и особенностей строения вектора. Приводятся литературные источники и примеры клинических исследований с использованием подобных векторов	Предположение о низком риске вследствие отсутствия иммуномодулирующей или пролиферативной активности
Beqvez [16]	Анализ сайта интеграции методом TES на образцах печени, полученных в ходе 2-летнего исследования на яванских макаках. Предположение о низком риске из-за эписомальной формы локализации вектора в клетке	Отсутствие пролиферативных изменений в печени по данным гистологии и УЗИ
Glybera [10]	Предположение о низком риске из-за эписомальной формы локализации вектора в клетке. Проведено исследование <i>in vitro</i> с использованием ПЦР и секвенирования нового поколения	Анализ образования опухолей в рамках исследования общей токсичности
Hemgenix [11]	Анализ сайта интеграции с использованием геномной ДНК из клеток печени мышей и нечеловекообразных приматов. Предположение о низком риске из-за эписомальной формы локализации вектора в клетке	Анализ образования опухолей в рамках исследований общей токсичности
Delytact [24]	Предположение о низком риске из-за отсутствия возможности вируса ВПГ-1 встраиваться в геном клетки и литературным данным по исследованиям <i>in vivo</i> на мышах и обезьянах и <i>in vitro</i> (тест Эймса, анализ хромосомных aberrаций, микроядерный тест)	Анализ образования опухолей в рамках исследований общей токсичности
Collatene [14]	Предположение о низком риске вследствие внеядерной локализации плазмиды в клетке. Анализ ДНК-комет на ядрах клеток почек и легких (где обнаруживалась плазида при исследовании биораспределения) у крыс	Анализ влияния плазмиды на рост опухолей у мышей с индуцированными опухолями

Прим.: ВПГ – вирус простого герпеса; ПЦР – полимеразная цепная реакция; УЗИ – ультразвуковое исследование; TES – таргетное секвенирование

Note.: ВПГ, herpes simplex virus; ПЦР, polymerase chain reaction; УЗИ, ultrasonography; TES, targeted sequencing

в зависимости от дозы, а также обратимость этих эффектов [10]. К нежелательным эффектам относятся, например, признаки воспаления, инфильтрации и некроза, которые выявляются с помощью гистологических исследований [14].

Введение ГТЛП может вызывать развитие иммуногенности и иммунотоксичности у пациента. На возникновение иммунного ответа оказывают влияние иммунный статус пациента, кратность и место введения, вид используемой системы доставки и доза препарата. Кроме того, иммунный ответ может возникнуть на экспрессируемый продукт трансгена [1]. Иммунный ответ на белки капсида и продукт экспрессии трансгена был оценен на мышах и обезьянах в рамках токсикологических исследований препаратов roctavian и beqvez [9, 16]. Обширное исследование иммуногенности было проведено в процессе ДКИ препарата collatogene: кожные аллергологические тесты – Hetero-РСА и Homo-РСА на мышах и крысах, а также тест на системную реакцию на морских свинках [14].

Для препаратов, обнаруживаемых в гонадах и половых клетках, или применяемых у женщин в детородном возрасте необходимо проведение исследований репродуктивной токсичности. ГТЛП, которые содержат плазмидную ДНК или вирусные векторы, не способные к репликации и интеграции в геном клеток, и не обладающие тропизмом к половым клеткам, имеют более низкий риск передачи по зародышевой линии. Например, для ААВ риск передачи по зародышевой линии считается минимальным [25, 26].

В противном случае должен быть представлен анализ эмбриофетальной и перинатальной токсичности, а также исследований передачи вектора и трансгена по зародышевой линии [1]. При необходимости можно провести исследования очистки семенной жидкости или фракционирования спермы, чтобы продемонстрировать отсутствие трансдукции сперматозоидов [27].

Для оценки риска передачи по зародышевой линии вектора и трансгена возможно проведение анализа скрещивания. Так, у детенышей, полученных от пролеченных препаратом roctavian самцов мышей, анализировали биоптат печени на присутствие ДНК вектора [9]. Обнаружение вектора в семенной жидкости и сперматозоидах самцов мышей, котлов и кроликов сделало необходимым тестирование препарата glybera на возможность передачи вектора поколению F1, дополнительно проводился анализ эффектов на репродуктивную функцию самок и развитие плода у мышей [10].

Подобно другим группам препаратов, для *in vivo* ГТЛП в рамках ДКИ необходимо изучение взаимодействия с другими ЛП, используемыми для сопутствующей терапии, если эти ЛП оказывают влияние на трансфекцию/трансдукцию, тропизм и персистенцию вектора, экспрессию и биологическую активность терапевтического гена [1]. Например, в ДКИ glybera

оценивалось изменение клиренса вектора при иммуносупрессивной терапии [10], для roctavian – токсичность при сопутствующем лечении стероидами [9], а в ДКИ imlygic проводился *in vitro* тест бляшкообразования на клеточной линии Vero с целью изучения чувствительности препарата на основе вируса простого герпеса к ацикловиру [28].

Заключение

Концепция экспертной оценки объема и результатов проведенных ДКИ *in vivo* ГТЛП при государственной регистрации по правилам Евразийского экономического союза должна основываться на достаточности данных для оценки пользы и риска от применения рассматриваемого препарата. Дизайн ДКИ помимо стандартных исследований, характерных для других групп ЛП, должен содержать исследования специфичные для *in vivo* ГТЛП, например, биораспределение и возможность выделения вектора (особенно РКВ) в окружающую среду в рамках фармакокинетических исследований, а также иммуногенность и иммунотоксичность в рамках токсикологических исследований. Кроме того, отдельные препараты, в зависимости от показаний к применению, целевой когорты пациентов, особенности вектора (например, возможность образования РКВ или встраивания в геном клетки-хозяина), активности и функции трансгенного продукта, тропизма вектора и длительности персистенции его в организме должны дополнительно тестироваться на генотоксичность (нецелевую интеграцию в геном клетки-хозяина, инсерционный мутагенез и опухолеобразование), репродуктивную токсичность (а в некоторых случаях и анализ на эмбриофетальную и перинатальную токсичности) и местную переносимость.

Кроме того, международный опыт подтверждает эффективность интеграции фармакокинетических и токсикологических исследований при рассмотрении документов, представляемых на регистрацию лекарственных препаратов. В ряде случаев оценка потенциального риска может базироваться на теоретическом анализе конструктивных особенностей препарата, наличии соответствующих публикаций в научной литературе и опыте его клинического применения.

Вклад авторов

Разработка концепции и дизайна исследования:

О.А. Рачинская, В.А. Меркулов

Сбор, анализ и интерпретация данных: О.А. Рачинская, Е.В. Мельникова

Подготовка и редактирование текста: О.А. Рачинская, Е.В. Мельникова

Author contributions

Concept and design: Rachinskaya, Merkulov

Acquisition, analysis, or interpretation of data: Rachinskaya, Melnikova

Manuscript drafting and revising: Rachinskaya, Melnikova

Литература/References

- European Medicines Agency. *Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products*. European Medicines Agency; 2018. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-and-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_en.pdf
- Рачинская О.А., Мельникова Е.В., Меркулов В.А. Особенности дизайна доклинических исследований препаратов генной терапии *in vivo*. Часть 1: фармакологические исследования. *Инновационная медицина Кубани*. 2025;10(4):113-120. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2025-10-4-113-120>
- Rachinskaya O.A., Melnikova E.V., Merkulov V.A. Design Features of Nonclinical Studies of In Vivo Gene Therapy Medicinal Products. Part 1: Pharmacological studies. *Innovative Medicine of Kuban*. 2025;10(4):113-120. <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2025-10-4-113-120>
- International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. *ICH Harmonised Guideline: Nonclinical Biodistribution Considerations for Gene Therapy Products S12*. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 2023. Accessed April 13, 2025. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_S12_Step4_Guideline_2023_0314.pdf
- Moffit JS, Blanset DL, Lynch JL, et al. Regulatory consideration for the nonclinical safety assessment of gene therapies. *Hum Gene Ther*. 2022;33(21–22):1126–1141. PMID: 35994386. PMCID: PMC9700330. <https://doi.org/10.1089/hum.2022.090>
- European Medicines Agency. *ICH Considerations: General Principles to Address Virus and Vector Shedding*. European Medicines Agency; 2009. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use-considerations-general-principles-address-virus-and-vector-shedding_en.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Zolgensma. International Non-Proprietary Name: Onasemnogene Apeparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/004750/0000*. European Medicines Agency; 2020. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zolgensma-epar-public-assessment-report_en.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Luxturna. International Non-Proprietary Name: Voretigene neparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/004451/0000*. European Medicines Agency; 2019. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/luxturna-epar-public-assessment-report_en.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Upstaza. International Non-Proprietary Name: Eladocagene exuparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/005352/0000*. European Medicines Agency; 2022. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/upstaza-epar-public-assessment-report_en.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Roctavian. International Non-Proprietary Name: Valoctocogene roxaparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/005830/0000*. European Medicines Agency; 2022. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/roctavian-epar-public-assessment-report_en.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Glybera. International Nonproprietary Name: Alipogene tiparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/002145*. European Medicines Agency; 2012. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/glybera-epar-public-assessment-report_en.pdf
- Summary Basis for Regulatory Action - HEMGENIX. FDA; 2022. Accessed April 13, 2025. <https://www.fda.gov/media/164094/download?attachment>
- Summary Basis for Regulatory Action – ELEVIDYS. FDA; 2023. Accessed April 13, 2025. <https://www.fda.gov/media/169746/download?attachment>
- Summary Basis for Regulatory Action. FDA; 2015. Accessed April 13, 2025. <https://wayback.archive-it.org/7993/20190425013447/https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM473103.pdf>
- Мельникова Е.В., Рачинская О.А., Меркулов В.А. Высокотехнологические лекарственные препараты на основе онколитических вирусов (часть 1: разработка и регистрация в КНР). *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2021;11(3):148–159. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-148-159>
- Melnikova EV, Rachinskaya OA, Merkulov VA. Advanced therapy medicines based on oncolytic viruses (part I: development and authorisation of products in China). *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2021;11(3):148-159. (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2021-11-148-159>
- Коллегия Евразийской экономической комиссии. *Решение от 26 ноября 2019 г. № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»*. Коллегия Евразийской экономической комиссии; 2019. Дата обращения: 13.04.2025. https://docs.eaeunion.org/upload/iblock/072/nzmd6i2fwbj90ndkm4riswwc-z9ecgsa2/clcd_29112019_202_doc.pdf
- European Medicines Agency. *Assessment Report: Durveqtix. International non-proprietary name: Fidanacogene elaparvovec. Procedure No. EMEA/H/C/004774/0000*. European Medicines Agency; 2024. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/durveqtix-epar-public-assessment-report_en.pdf
- Summary Basis for Regulatory Action – ADSTILADRIN. FDA; 2022. Accessed April 13, 2025. <https://www.fda.gov/media/164532/download?attachment>
- Tsai HY, Hamilton A, Tinch E, et al. Genome wide association and genomic prediction for growth traits in juvenile farmed Atlantic salmon using a high density SNP array. *BMC Genomics*. 2015;16:969. PMID: 26582102. PMCID: PMC4652364. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2117-9>
- Астапова О.В., Берчатова А.А. Генотерапевтические препараты: аспекты доклинического изучения безопасности. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(1):73–96. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-1-329>
- Astapova OV, Berchatova AA. Gene therapy medicinal products: non-clinical safety studies. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023;11(1):73–96. (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2023-11-1-329>
- Donsante A, Miller DG, Li Y, et al. AAV vector integration sites in mouse hepatocellular carcinoma. *Science*. 2007;317(5837):477. PMID: 17656716. <https://doi.org/10.1126/science.1142658>
- Dalwadi DA, Torrens L, Abril-Fornaguera J, et al. Liver injury increases the incidence of HCC following AAV gene therapy in mice. *Mol Ther*. 2021;29(2):680–690. PMID: 33554867. PMCID: PMC7854305. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.10.018>
- Chandler RJ, LaFave MC, Varshney GK, et al. Vector design influences hepatic genotoxicity after adeno-associated virus

gene therapy. *J Clin Invest.* 2015;125(2):870–880. PMID: 25607839. PMCID: PMC4319425. <https://doi.org/10.1172/JCI79213>

23. Nguyen GN, Everett JK, Kaffle S, et al. A long-term study of AAV gene therapy in dogs with hemophilia A identifies clonal expansions of transduced liver cells. *Nat Biotechnol.* 2021;39(1):47–55. PMID: 33199875. PMCID: PMC7855056. <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0741-7>

24. *Delytact Injection Daiichi Sankyo Company, Limited Review Report.* PMDA; 2021. Accessed April 13, 2025. <https://www.pmda.go.jp/files/000242808.pdf>

25. Couto L, Parker A, Gordon JW. Direct exposure of mouse spermatozoa to very high concentrations of a serotype-2 adeno-associated virus gene therapy vector fails to lead to germ cell transduction. *Hum Gene Ther.* 2004;15(3):287–291. PMID: 15018737. <https://doi.org/10.1089/104303404322886138>

26. Arruda VR, Fields PA, Milner R, et al. Lack of germline transmission of vector sequences following systemic administration of recombinant AAV-2 vector in males. *Mol Ther.* 2001;4(6):586–592. PMID: 11735343. <https://doi.org/10.1006/mthe.2001.0491>

27. Roehl HH, Leibbrandt ME, Greengard JS, et al. Analysis of testes and semen from rabbits treated by intravenous injection with a retroviral vector encoding the human factor VIII gene: no evidence of germ line transduction. *Hum Gene Ther.* 2000;11(18):2529–2540. PMID: 11119423. <https://doi.org/10.1089/10430340050208000>

28. European Medicines Agency. *Assessment Report: Imlygic. International Non-Proprietary Name: Talimogene laherparepvec. Procedure No. EMEA/H/C/002771/0000* European Medicines Agency; 2019. Accessed April 13, 2025. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/imlygic-epar-public-assessment-report_en.pdf

Сведения об авторах

Рачинская Ольга Анатольевна, к. б. н., ведущий эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов, Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва, Россия). <https://orcid.org/0000-0001-8377-9205>

Мельникова Екатерина Валерьевна, к. б. н., начальник лаборатории биомедицинских клеточных продуктов, Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва, Россия). <https://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Меркулов Вадим Анатольевич, д. м. н., профессор, заместитель генерального директора, Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва, Россия). <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-01 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учёта НИР 124022200093-9).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Authors credentials

Olga A. Rachinskaya, Cand. Sci. (Biol.), Leading Expert, Laboratory of Biomedical Cell Products, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-8377-9205>

Ekaterina V. Melnikova, Cand. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Biomedical Cell Products, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy General Director, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Funding:

The study was carried out within the framework of FSBI “SCEEMP” No. № 056-00001-25-01 for applied scientific research (Research State Registration Number No. 124022200093-9).

Conflict of interest: none declared.