

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ: ПОСЛЕДНИЕ ДОСТИЖЕНИЯ И АКТУАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ

Е.А. Слободкина^{1,2}, М.Н. Карагяур^{1,2}, В.Ю. Балабаньян¹, П.И. Макаревич^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Институт регенеративной медицины, Москва Россия

GENE THERAPY IN REGENERATIVE MEDICINE: LATEST ACHIEVEMENTS AND ACTUAL DIRECTIONS OF DEVELOPMENT

E.A. Slobodkina^{1,2}, M.N. Karagyaour^{1,2}, V.Yu. Balabanyan¹, P.I. Makarevich¹

¹ M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine, Moscow, Russia

² M.V. Lomonosov Moscow State University, Institute of Regenerative Medicine, Moscow, Russia

e-mail: kslobodkina@mail.ru

Под генной терапией понимают лечение различных групп заболеваний путем замены поврежденных генов, введения новых генов или изменения их экспрессии. Это относительно молодая и активно развивающаяся область медицины. Директивы правового регулирования обращения генотерапевтических средств, в части их производства, доклинических и клинических исследований, а также получения разрешения на продажу, регулярно обновляются. В данной работе представлен обзор существующих в мире подходов к проведению исследований генотерапевтических лекарственных средств и процедур их «ускоренной регистрации». Также в статье суммируется опыт МГУ им. М.В. Ломоносова по разработке и созданию векторов нового направления — генной терапии для доставки нескольких терапевтических белков. В ближайшем будущем этот подход может быть использован для повышения эффективности генной терапии, направленной на стимуляцию роста сосудов, нервных окончаний и регенерацию тканей.

Ключевые слова: генная терапия, регенеративная медицина, клинические исследования, регистрация лекарственных средств.

Введение

Среди многих развивающихся направлений переноса терапии к настоящему моменту самый большой клинический опыт накоплен в области *генной терапии (ГТ)*. Под ГТ понимают группу методов, направленных на модификацию последовательности генов или управление их экспрессией, а также на изменение биологических свойств клеток для их терапевтического или профилактического использования. Это определение (в переводе), приводимое Администрацией по продуктам питания и лекарствам (Food and Drug Administration — FDA) США, считается консенсусным и соответствующим уровню развития ГТ в медицине и в научном плане [1].

Разработанные методы ГТ позволяют проводить следующие манипуляции в медицинских целях:

- вносить в клетки копии «здорового» гена (как в геном, так и эписомально);
- инактивировать вызывающий заболевание ген;
- вводить неизменные, синтетические (рекомбинантные) или модифицированные генетические последовательности в клетки человека.

Эти методы нашли применение в лечении широкого спектра заболеваний — от наследственных иммунодефицитов и нейродегенеративных состояний до онкологических и других неинфекционных болезней, причем генетические манипуляции могут быть выполнены как *in vivo*, так и *ex vivo*.

Gene therapy is a group of methods for treatment of various groups of diseases by replacement of damaged, introducing new genes or changing their expression. This is a new and actively developing area in biomedicine. Approaches to regulation of gene therapy drugs at all stages — from production, preclinical and clinical trials, as well as registration and marketing approval are not fully developed and regularly updated. This article provides an overview of worldwide approaches to conducting studies of gene therapy drugs and the procedures for their “accelerated registration”. This article as well summarizes our experience of Lomonosov Moscow State University in development of new direction vectors — gene therapy for the delivery of several therapeutic proteins. In the near future, this approach can be used to increase the effectiveness of gene therapy for stimulating vascular and axon growth, and tissue regeneration.

Keywords: gene therapy, regenerative medicine, clinical trials, drug registration.

Внедрение методов ГТ в медицину оказалось сопряжено с рядом сложностей, которые были связаны с недостаточно глубоким пониманием рисков манипуляций с генетической информацией в медицинских целях [2, 3]. Появление новых методов ГТ, основанных на комбинировании генной и клеточной терапии, потребовало от надзорных органов ввести оправданно строгие требования к проведению клинических исследований (КИ) в этой области. В связи с расширением возможностей методов *редактирования генома* (системы CRISPR/Cas9 и ее аналогов) в ближайшее время мы вправе ожидать новых изменений, связанных с правовым регулированием в этой области. Тем не менее, даже в отношении хорошо изученных методов ГТ разработчики зачастую оказываются в затруднении при трансляции своих исследований в клиническую практику. В зависимости от страны, типа препарата и научно обоснованных рисков его применения для выведения на рынок необходимо выполнить достаточно внушительный объем исследований. Настоящая статья представляет собой сжатый обзор современного состояния дел в области ГТ с точки зрения практического внедрения, а также излагает взгляд авторов на возможности новых перспективных методов для создания генотерапевтических препаратов и корректировку нормативных документов правового регулирования обращения генотерапевтических средств.

Клинические исследования препаратов для геной терапии: актуальное состояние и особенности

По данным журнала *Gene Medicine*, в мире были проведены, проводятся или одобрены почти 3 тыс. КИ препаратов для геной терапии (на декабрь 2018 г. — 2930 исследований) [4], и более половины из них (56,1%) составляют исследования I фазы, то есть КИ с привлечением ограниченных групп добровольцев и пациентов. Основные показания для проводимых КИ: онкологические, сердечно-сосудистые, инфекционные заболевания и моногенные наследственные болезни.

Дизайн фаз КИ генотерапевтических препаратов часто отличается от методологии проведения КИ для других видов лекарственных средств. Это связано с самой природой генотерапевтических препаратов, для которых характерен ряд нижеприведенных особенностей.

- Неприменимость «классических» положений фармакокинетики. Стандартные фармакокинетические исследования абсорбции/распределения/метаболизма и экскреции, используемые для других лекарственных препаратов, могут быть нерелевантны для генотерапевтических препаратов. Фармакокинетические исследования необходимо сосредоточить на изучении распределения, персистенции, клиренса и мобилизации генотерапевтического лекарственного препарата. Изучается распределение, персистенция, клиренс и мобилизация вектора на основании оценки концентрации белка в органах и тканях.
- Недостаточно хорошо изучены долгосрочные последствия применения генотерапевтических препаратов, что имеет важное значение при планировании конечных точек исследования, общего времени наблюдения за пациентами и регистрации отсроченных эффектов.
- Видоспецифичность генетической информации, векторов и обусловленная этим недостаточная валидность биологических моделей.

Таким образом, в этой области зачастую оказывается плохо применим многолетний опыт, накопленный в области доклинических исследований специфической активности других классов препаратов. В этой связи продукты и препараты для ГТ, как правило имеют особый регуляторный статус, который проиллюстрирован примерами ниже. Более того, в практике наметилась тенденция к введению процедур ускоренной регистрации генотерапевтических препаратов, о которых речь пойдет в соответствующих разделах.

Генотерапевтические препараты

На данный момент в мире зарегистрировано и разрешено к применению несколько генотерапевтических препаратов, первым из которых стал Гендидин (*Gendicine*) компании *Shenzhen Sibiome GeneTech Co. Ltd* (Китай), появившийся на китайском фармацевтическом рынке в 2003 г. Препарат представляет собой рекомбинантный аденовирус человека, несущий ген белка p53, с целью лечения злокачественных опухолей головы и шеи [5]. С 2003 г. курс лечения Гендидином прошли более 30 тыс. человек, было опубликовано более 30 отчетов о КИ: была доказана безопасность препарата, а эффективность при его применении в сочетании с радио- и химиотерапией превышала эффективность стандартных схем лечения [6].

Первым препаратом для геной терапии, появившемся на рынке в Европейском союзе (ЕС), стал

препарат Глибера (*Glybera*, *Alipogene tiparvovec*, *uniQure*, Нидерланды). Лекарственное средство получило разрешение на продажу в ЕС в 2012 г. и используется для лечения очень редкого наследственного заболевания — врожденного дефицита липопротеинлипазы. Механизм действия препарата заключается в восстановлении необходимого уровня экспрессии липопротеинлипазы путем доставки кодирующего её гена в мышечные клетки. Вектор для переноса терапевтической ДНК — аденоассоциированный вирус [7]. Препарат Глибера стал самым дорогим лекарством в мире, стоимость курса лечения составляла около 1 млн. долларов. В 2017 г. компания-разработчик (*uniQure*, Нидерланды) отказалась от обновления разрешения на продажу препарата в виду отсутствия спроса и, соответственно, рентабельности (курс лечения препаратов Глибера прошёл только 1 пациент).

Ещё одним генотерапевтическим препаратом на основе аденоассоциированного вируса является Люкстурна (*Luxturna*, *Voretigene neparvovec-rzyl*, *Spark Therapeutics*, США). Препарат предназначен для лечения взрослых и детей с наследственной дистрофией сетчатки, вызванной мутациями гена *RPE65*. Механизм действия препарата заключается в доставке нормальной копии гена *RPE65* непосредственно в клетки сетчатки, которые после этого синтезируют нормальный фоточувствительный белок RPE65, что приводит к улучшению зрительной функции [8]. Препарат был одобрен в США в декабре 2017 г. с помощью процедуры приоритетной экспертизы (о важности такой экспертизы речь пойдет в соответствующем разделе статьи), а в 2018 г. применение препарата *Luxturna* было одобрено Европейским агентством по лекарствам (*European Medicines Agency*, EMA). В настоящее время на территории ЕС производство препарата осуществляет компания *Novartis*, права на который за пределами США она приобрела у американской компании *Spark Therapeutics*. По данным производителя с момента выпуска насчитывается 52 случая коммерческого использования данного препарата, что делает Люкстурна одним из наиболее востребованных средств для ГТ.

Препарат Имглик (*Imlygic*, *Talimogene laherparepvec*, *BioVec*, *Amgen*, США), представляющий собой генетически модифицированный онколитический вирус простого герпеса I типа, способный реплицироваться только в опухолевых клетках, вызывая их гибель [9], был одобрен FDA и EMA в 2015 г. для местного лечения нерезектабельной рецидивирующей меланомы с поражениями кожи, подкожной клетчатки и лимфатических узлов у пациентов после первичного хирургического вмешательства.

Онкорин (*Oncorine*, *H101*, *Shanghai Sunway Biotech*, Китай) — ещё один препарат на основе онколитического рекомбинантного аденовируса, был разрешен к использованию в Китае с 2005 г. для лечения плоскоклеточного рака головы, шеи и пищевода [10].

В 2019 г. FDA одобрило препарат Золгенсма (*Zolgensma*, *Onasemnogene aeparvovec-xioi*) компании *AveXis, Inc* (США, [группа Новартис]), предназначенный для терапии спинальной мышечной атрофии у детей младше 2 лет. Генная терапия препаратом заключается в доставке в моторные нейроны функциональной копии гена *SMN1* с помощью аденоассоциированного вируса 9. Однократное внутривенное введение приводит к синтезу белка SMN в двигательных нейронах ребенка, что улучшает функционирование мышц и обеспечивает выживание ребенка. Безопасность и эффективность Золгенсма была доказана в КИ с участием

36 пациентов со спинальной мышечной атрофией в возрасте от 2 недель до 8 месяцев на момент начала исследования [11].

Среди невирусных ГТ средств первым в мире зарегистрированным препаратом (в 2011 г.) оказалось отечественное лекарственное средство на основе плазмидной ДНК под торговым названием Неоваскулген. Владелец регистрационного удостоверения является ПАО «Институт стволовых клеток человека». Неоваскулген представляет собой лиофилизированную форму плазмидной ДНК, кодирующей ген фактора роста эндотелия сосудов человека — *VEGF165*. Регистрационные КИ показали, что Неоваскулген обладает ангиогенной активностью, что позволяет применять его для лечения ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза [12–14].

В 2019 г. в Японии был разрешен к применению ещё один плазмидный генотерапевтический препарат — Collatogene, права на который принадлежат компании AnGes, Inc. (Япония). Препарат содержит плазмиду, кодирующую фактор роста гепатоцитов HGF и, подобно Неоваскулгену, стимулирует рост сосудов и предназначен для лечения критической ишемии нижних конечностей. Компания AnGes подала заявку на разрешение продажи препарата Collatogene в Министерство здравоохранения, труда и социального обеспечения Японии (MHLW) в январе 2018 г., основываясь на положительных результатах рандомизированного плацебо-контролируемого исследования III фазы. В соответствии с условиями процедуры одобрения, компания AnGes в течение 5 лет должна провести дополнительные исследования, подтверждающие эффективность препарата для всех пациентов, которые проходят курс лечения, после чего компания AnGes сможет подать заявку на получение регистрационного удостоверения [15].

В случае с *ex vivo* генной терапией, первым зарегистрированным препаратом является Стримвелис (Strimvelis) компании GlaxoSmithKline plc., Великобритания (GSK). Препарат был одобрен EMA в 2016 г. для лечения очень редкого наследственного заболевания — тяжелого комбинированного иммунодефицита у детей, связанного с дефицитом аденозиндезаминазы (ADA-SCID). Лечение персонализировано для каждого пациента: из костного мозга больного выделяют CD34⁺-стволовые клетки, генетически модифицируют их γ -ретровирусом, несущим ген аденозиндезаминазы, и ретрансплантируют пациенту [16]. На сегодняшний день лечение препаратом прошли всего несколько человек, а в 2018 г. компания GlaxoSmithKline продала портфель одобренных и экспериментальных препаратов для генной терапии редких заболеваний, включая Стримвелис, другой британской компании — Orchard Therapeutics.

Кимрайа (Kymriah, Tisagenlecleucel, Новартис) — первый одобренный FDA препарат для Т-клеточной терапии (CAR-T). Препарат был зарегистрирован в 2017 г. и применяется для лечения В-клеточного острого лимфобластного лейкоза. В мае 2018 г. FDA одобрило расширение показаний к применению препарата, теперь его можно использовать для лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы у пациентов, чье состояние ухудшилось после проведения двух или более линий терапии. Препарат Кимрайа состоит из генетически модифицированных аутогенных Т-клеток, полученных с помощью трансфекции клеток лентивирусным вектором, кодирующим химерные рецепторы антигена (CAR). Экспрессия CAR позволяет трансфицированным Т-клеткам распознавать и уничтожать CD19⁺-раковые

В-клетки. Нужно отметить, что стоимость однократной терапии с использованием Кимрайа составит 475 тыс. долларов [17].

Препарат Ескарта (Yescarta, Axicabtagene ciloleucel) был разработан компанией Kite, поглощенной Gilead Sciences, Inc. (США) и одобрен FDA также в 2017 г. Это второй зарегистрированный препарат для CAR-T терапии. Ескарта применяется при рецидивирующей и рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфоме после двух или более линий системной терапии. Основное отличие препарата Ескарта от Кимрайа состоит в том, что для модификации Т-клеток используется γ -ретровирус [18].

В августе 2016 г. условное разрешение на применение в Европе получил препарат Залмоксис (Zalmoxis, Nalotimagene carmaleucel, MolMed SpA, Италия). Залмоксис состоит из аллогенных Т-лимфоцитов, генетически модифицированных ретровирусом, кодирующим урезанную форму низкоаффинного рецептора фактора роста нервов человека (Δ LNGFR) и тимидинкиназу вируса простого герпеса I типа (HSV-TK Mut2). Препарат предназначен для использования в качестве дополнительного лечения при гаплоидентичной трансплантации гематопозитических стволовых клеток взрослым пациентам с гематологическими злокачественными новообразованиями высокой степени риска [19].

Ещё один препарат для *ex vivo* генной терапии с применением аллогенной клеточной трансплантации — Инвосо (Invossa, TG-C, Topogenchancel-L, TissueGene, Южная Корея) — получил разрешение на продажу от Корейского Управления по контролю качества продуктов и лекарств в июле 2017 г. Кроме Южной Кореи, в США также ведется его КИ III фазы. Терапия с использованием Инвосо заключается во введении пациентам с остеоартритом смеси не модифицированных и генетически изменённых хондроцитов. Модифицированные клетки синтезируют фактор роста TGF- β 1, что обеспечивает противовоспалительный эффект и способствует регенерации суставов [20]. Однако в июне 2019 г. регистрационное удостоверение препарата было отозвано в связи с представлением ложных данных о его составе при подаче заявки на одобрение: вместо хондроцитов Инвосо содержит клетки линии HEK293. Также сообщается о регистрации около 300 случаев побочного действия препарата, включая образование опухолей, но связь данных побочных эффектов с применением препарата пока уточняется [21, 22].

Регуляторные аспекты обращения препаратов для генной терапии: обзор мировой практики

В области трансляционных исследований в ГТ лидерами являются США, страны ЕС, Япония и ряд стран азиатского региона, где несколько десятилетий успешно ведутся КИ генотерапевтических препаратов (в том числе с использованием генетически модифицированных клеток). Следует отметить, что нормативные документы в области регулирования обращения препаратов для ГТ претерпевают изменения вследствие получения новых научных данных и результатов КИ.

В таблице суммирована актуальная информация о положении дел в области правового регулирования обращения препаратов для ГТ в ряде стран, включая Россию. Информация носит обобщающий характер, и в дальнейших разделах будут приведены необходимые уточнения и дополнительные сведения по конкретным юрисдикциям и особенностям регулирования обращения генотерапевтических препаратов.

Таблица. Правовое регулирование обращения препаратов для генной терапии в разных странах

Страна	Регулирующий орган	Нормативная классификация генотерапевтического препарата	Основные нормативные документы
Россия	Министерство здравоохранения	Геннотерапевтические лекарственные препараты являются подклассом «биологических лекарственных препаратов». К ним относятся рекомбинантные нуклеиновые кислоты, позволяющие осуществлять регулирование, репарацию, замену, добавление или удаление генетической последовательности	Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; Федеральный закон № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах»
США	Центр экспертизы и изучения биопрепаратов (CBER) в составе Администрации по продуктам питания и лекарствам (FDA); Национальные институты здоровья (National Institutes of Health (NIH))	ГТ препараты входят в группу биологических препаратов (Biologics). К препаратам ГТ относятся плазмидные, вирусные и бактериальные векторы, технологии редактирования генома человека, а также ex vivo модифицированные клетки	Титул 42 U.S.C 262(a) — Регуляция биологических продуктов (Regulation of biological products) раздела 21 свода федеральных регламентов
ЕС	Европейское агентство по лекарствам (EMA)	Препараты для ГТ относятся к лекарственным препаратам передовой терапии (Advanced therapy medicinal products, ATMPs) и включают как генетические векторы (нуклеиновые кислоты, плазмиды, вирусы, генномодифицированные микроорганизмы), так и модифицированные ими клетки	Директива 2001/83/ЕС Европейского Парламента и Совета по лекарственным препаратам передовой терапии; Регламент (ЕС) № 1394/2007 Европейского парламента и Совета от 13 ноября 2007 г. о лекарственных препаратах передовой терапии и исправляющий Директиву 2001/83/ЕС и Регламент (ЕС) № 726/2004; Директива Европейского Парламента и Совета Европейского Союза 2001/18/ЕС от 12 марта 2001 г. о преднамеренном выпуске в окружающую среду генетически модифицированных организмов и об отмене Директивы Совета ЕС 90/220/ЕЭС; Регламент (ЕС) № 726/2004 Европейского парламента и Совета от 31 марта 2004 г., устанавливающий союзные процедуры разрешения и надзора для лекарственных препаратов для медицинского и ветеринарного применения и учреждающий Европейское агентство по лекарствам
Япония	Министерство здравоохранения, труда и социального обеспечения (MHLW); Агентство по лекарственным средствам и медицинским изделиям (PMDA)	ГТ включает in vivo и ex vivo введение вирусных и невирусных векторов (плазмидной ДНК), а также векторов, используемых для доставки мiPHK и антисмысловых РНК	Закон о лекарственных средствах и медицинских устройствах (Pharmaceuticals and Medical Devices Act, PMD, № 84/2013); Закон о безопасности регенеративной медицины (Act on the Safety of Regenerative Medicine, ASRM, № 85/201)

Страна	Регулирующий орган	Нормативная классификация генотерапевтического препарата	Основные нормативные документы
Южная Корея	Министерство безопасности пищевых продуктов и лекарственных средств (MFDS); Национальный институт по оценке безопасности продуктов питания и лекарственных средств (NIFDS); Отдел по препаратам генной и клеточной терапии в составе департамента по биофармацевтическим и растительным лекарствам (Biopharmaceuticals and Herbal Medicines Bureau, Biopharmaceuticals and Herbal Medicines Evaluation Department, Gene and Cell Therapy Products Division)	ГТ препараты являются биологическими препаратами передовой терапии. К генотерапевтическим средствам не относятся химически синтезированные нуклеиновые кислоты и олигонуклеотиды (миРНК), немодифицированные онколитические вирусы	Закон о фармацевтической продукции (РАА); Положение о рассмотрении и разрешении биологических продуктов

Регулирование обращения генотерапевтических препаратов в РФ

В настоящее время обращение генотерапевтических препаратов регулируется Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 (ред. от 06.06.2019).

В актуальной редакции Федерального закона № 61-ФЗ содержится определение «биологических лекарственных препаратов», подклассом которых являются генотерапевтические лекарственные препараты. Это дополнение было внесено 01.07.2015 г. (Федеральный закон № 429-ФЗ от 22.12.2014) вместе с определением орфанных препаратов и привело к тому, что сейчас генотерапевтические лекарственные препараты определяются ст. 4 Федерального закона № 61-ФЗ как «лекарственные препараты, фармацевтическая субстанция которых является рекомбинантной нуклеиновой кислотой или включает в себя рекомбинантную нуклеиновую кислоту, позволяющую осуществлять регулирование, репарацию, замену, добавление или удаление генетической последовательности» [23].

Правила надлежащей производственной практики, применяемые при производстве лекарственных средств, актуальны и для генотерапевтических препаратов и установлены приказом Минпромторга № 916 от 14.06.2013 «Об утверждении правил надлежащей производственной практики». К данному приказу имеется Приложение № 2 — «Специальное руководство по отдельным типам продукции», в котором установлены требования для производства «Лекарственных препаратов генной терапии (Класс В9)». В п. 124 Приложения № 2 имеется указание о том, обращении каких типов лекарственных препаратов для генной терапии регулируется настоящими правилами, и, помимо препаратов для прямой генной терапии на основе плазмид или вирусов, среди прочих названы «лекарственные препараты генной терапии, содержащие генетически модифицированные клетки».

В данной ситуации возникает явная правовая двойственность, так как согласно российскому законодательству, а именно, Федеральному закону № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах», продукты, содержащие культивированные клетки, относятся

к уникальному классу — биомедицинским клеточным продуктам (БМКП), обращение которых регулируется Федеральным законом № 180-ФЗ. Более того, в отношении возможности получения модифицированных БМКП в п. 1 ст. 4 Федерального закона № 180-ФЗ указано, что получение клеточной линии для производства БМКП может включать «культивирование и модификацию вне организма человека», что в явном виде не исключает внесения генетических модификаций с помощью методов редактирования генома. При этом разъяснений о разрешенных физических, химических или иных методах модификации клеток в принятых нормативных правовых актах не имеется. В определенной мере эту проблему разрешает «Комментарий к Федеральному закону № 180-ФЗ» [24], в котором к ч. 1 ст. 4 Федерального закона № 180-ФЗ дается авторское пояснение, что «под модификацией клеток подразумевается совокупность воздействий, меняющих их генетические (наследуемые) и (или) фенотипические (внешние) свойства»

Таким образом, в РФ с регуляторной точки зрения имеются нижеприведенные особенности обращения генотерапевтических препаратов.

- Бесклеточные генотерапевтические лекарственные препараты (включая препараты для редактирования генома) на основе рекомбинантных плазмид, последовательностей нуклеиновых кислот или вирусов полностью, как биологические лекарственные препараты, подпадают под действие Федерального закона № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств», а правила их надлежащей производственной практики изложены в Приказе Минпромторга № 916 [25].
- Клетки, подвергнутые генетической модификации в культуре вне организма человека, относятся к препаратам клеточной терапии и попадают под действие отдельного Федерального закона № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» (БМКП, полученные из линий, подвергнутых модификации в культуре, которая допускается ч. 1 ст. 4 данного Федерального закона). Регуляция разработки и регистрации этой группы препаратов выходит за рамки данного обзора.

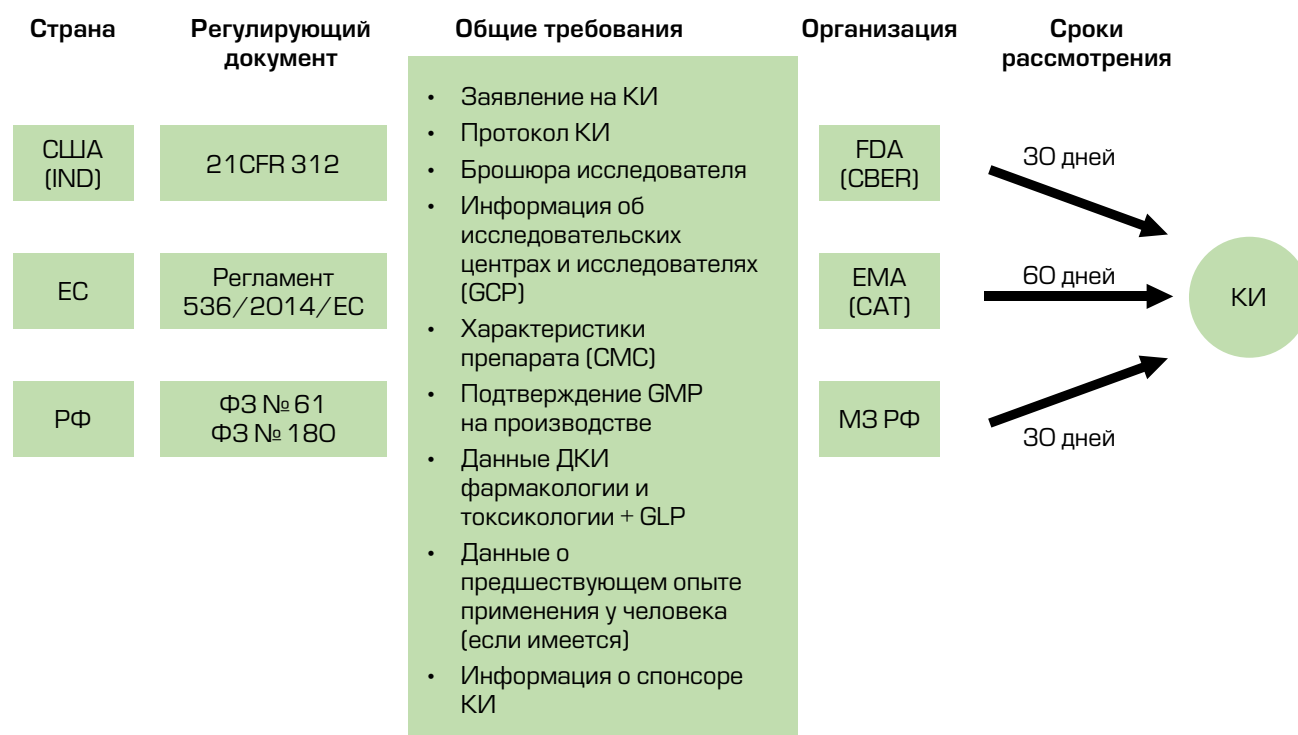


Рис. 1. Схема получения разрешения на проведение клинических исследований в США, ЕС и России

Для генотерапевтических препаратов на основе плазмид и вирусов для получения разрешения на проведение КИ заявитель представляет в уполномоченный федеральный орган исполнительной власти (Министерство здравоохранения России) документы, перечень которых устанавливается ст. 39 Федерального закона № 61-ФЗ и Приказом Минздрава России от 19.01.2018 № 20н «Об утверждении Административного регламента Министерства здравоохранения Российской Федерации по предоставлению государственной услуги по выдаче разрешения на проведение КИ лекарственного препарата для медицинского применения». Процедура получения разрешения на проведение КИ в России и других странах схематично представлена на рис. 1.

Если говорить об истории разработки и КИ генотерапевтических продуктов в России, то в 2011 г., как уже упоминалось выше, был зарегистрирован генотерапевтический препарат «Неоваскулген». Также на различных стадиях КИ находятся разработанные НМИЦ Кардиологии генотерапевтические препараты для лечения критической ишемии нижних конечностей — Юпикор и Корвиан, представляющие собой плазмиды с генами урокиназного активатора плазминогена и *VEGFA165* соответственно, а в МГУ им. М.В. Ломоносова на II фазе КИ находится препарат Иннервин, состоящий из плазмиды с геном мозгового нейротрофического фактора, предназначенного для стимуляции посттравматического восстановления периферических нервов. КИ II фазы проходит препарат Канцеролизин (ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирск), полученный на основе онколитического аденовируса (штамм Adel 2). Препарат предназначен для лечения плоскоклеточного рака головы и шеи, резистентного к химио- и лучевой терапии, и неоперабельного рака поджелудочной железы.

Отдельно стоит упомянуть разработку под названием Гистографт, созданную одноименной компанией («Гистографт» — резидент Сколково) и Институтом

металлургии и материаловедения РАН при поддержке Института стволовых клеток человека. Гистографт — это ген-активированный материал для пластики костной ткани, состоящий из гранул октокальциевого фосфата с нанесенной на них кольцевой ДНК, кодирующей ген *VEGF*. В 2019 г. по результатам проведенных клинических исследований Гистографт был зарегистрирован как медицинское изделие [26, 27].

Ускоренные процедуры регистрации лекарственных препаратов

Для упрощения вывода на рынок инновационных препаратов, предназначенных для лечения и облегчения течения тяжелых или редких заболеваний, в некоторых странах мира существуют специальные ускоренные процедуры регистрации лекарственных средств. Такого рода подходы не только ускоряют получение пациентами новых перспективных лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, но и снижают финансовую нагрузку на разработчиков и спонсоров исследований. За счет ускоренных процедур они могут в более короткие сроки получить данные об эффективности и безопасности продукта и принять обоснованное решение о целесообразности дальнейшей разработки.

В США сейчас действует несколько таких программ, которые позволяют сократить время ожидания разрешения на использование препарата или обоснованно ускорить его получение.

1. *Ускоренная процедура рассмотрения заявки на регистрацию лекарственного средства (Fast Track designation)* введена для облегчения разработки препаратов и ускорения процесса рассмотрения заявок. Это «облегчение» заключается в более плотном взаимодействии с FDA, консультациях при разработке дизайна исследования, выборе биомаркеров и сборе необходимых для получения регистрационного удостоверения данных. Для одобренных на ускоренное рассмотрение препаратов

действует система «постепенной экспертизы» («Rolling Review»), которая позволяет разработчикам представлять в FDA отдельные завершённые разделы заявки на получение разрешения на маркетинг биологического препарата (biologics license application, BLA), а не всю заявку целиком, как в случае стандартной процедуры подачи заявки. Для «включения» в программу Fast Track разрабатываемый лекарственный препарат должен предназначаться для лечения серьёзного и (или) жизнеугрожающего заболевания или улучшать диагностику данного заболевания, а также обладать потенциалом для лечения заболеваний, для которых на данный момент терапия не разработана. Если для данного заболевания существует терапия, то новый лекарственный препарат должен превосходить её по эффективности либо иметь меньше побочные эффекты [28].

2. *Регистрация принципиального нового (прорывного) лекарственного средства (Breakthrough Therapy designation)* позволяет ускорить разработку препаратов для лечения серьёзных заболеваний. Регистрация нового препарата возможна в тех случаях, когда предварительные данные КИ свидетельствуют о том, что препарат имеет значительные преимущества по сравнению с существующей терапией (заметно улучшает клинически значимую конечную точку — оценку самочувствия, функционального состояния или выживаемости пациента). Ускоренная регистрация достигается за счёт активной методической помощи со стороны FDA, начиная с I фазы КИ, использования комплексных (альтернативных) дизайнов КИ, участия руководства агентства в организационных вопросах, применения «постепенной экспертизы» и возможности приоритетной экспертизы [29].

3. *Приоритетное рассмотрение заявки на регистрацию лекарственного средства (Priority Review designation)* возможно для препаратов, которые, в случае одобрения, позволят значительно улучшить безопасность или эффективность лечения, диагностики или профилактики серьёзных состояний по сравнению со стандартными схемами лечения. Приоритетное рассмотрение заявки на регистрацию позволяет сократить время экспертизы с 10 до 6 месяцев (с 300 до 180 дней). Данная процедура не влияет на длительность или дизайн КИ. Решение о приоритетном рассмотрении заявки на регистрацию FDA выдает в течение 60 дней после получения заявки на получение разрешения на маркетинг биологического препарата (BLA), нового лекарственного средства (New Drug Application, NDA) или данных об эффективности разрабатываемого лекарственного препарата [30].

4. *Ускоренное одобрение на маркетинг биологического препарата (Accelerated Approval)* заключается в регистрации, исходя из результатов хорошо контролируемых КИ, показавших эффективность воздействия препарата на суррогатную конечную точку или промежуточную конечную точку, которая с достаточной вероятностью прогнозирует клиническую пользу лекарства. Под суррогатной точкой в данном случае понимается биомаркер, предназначенный для замены клинической конечной точки. Предполагают, что влияние на суррогатную точку способно предсказать клиническую пользу (или вред, или отсутствие эффекта) на основании эпидемиологических, терапевтических, патофизиологических или других научных данных. Использование суррогатных или промежуточных клинических конечных точек позволяет осуществлять более быстрый сбор данных об эффективности исследуемого препарата и, тем самым может ускорить процесс утверждения заявки BLA [31].

5. *Ускоренная программа рассмотрения лекарственных препаратов для регенеративной медицины (Regenerative Medicine Advanced Therapy Designation, RMAT)*. Исследователи, разрабатывающие препараты, которые относятся к регенеративной медицине (в том числе генотерапевтические средства), могут подать заявку на ускоренную процедуру их рассмотрения. Преимущества от рассмотрения препарата по программе RMAT включает все плюсы регистрации принципиально нового лекарственного средства (Breakthrough Therapy designation), в том числе взаимодействие с FDA на ранних этапах разработки. Отличие от программы Breakthrough Therapy designation заключается в том, что в случае RMAT не требуется доказательств того, что исследуемый препарат имеет существенные преимущества по сравнению с другими методами лечения [32].

Программа расширенного доступа (Expanded access) к исследуемым препаратам пациентов, не участвующих в КИ. Её применение возможно в случае, когда нет альтернативного эффективного способа лечения серьёзного заболевания у конкретного больного, включение которого в КИ невозможно. Кроме того, потенциальная польза от использования экспериментального препарата должна превышать возможные риски, а предоставление препарата не должно помешать проведению исследовательских испытаний для дальнейшей его разработки и регистрации.

Система, обеспечивающая пациенту «Право опробовать» новое лечение — Right-to-Try Legislation (R2T, Trickett Wendler Right to Try Act) в настоящее время принята во многих штатах и даёт неизлечимо больным пациентам право доступа к новым ещё не одобренным FDA лекарственным средствам и методам лечения, прошедшим КИ I фазы и находящимся в КИ последующих фаз и активной разработке [33].

В странах ЕС также предусмотрены программы раннего доступа пациентов к препарату («early access») [34].

PRIME (priority medicines, приоритетные лекарственные средства) — это система, запущенная ЕМА для поддержки разработки лекарственных средств, предназначенных для лечения заболеваний, для которых терапия отсутствует. Предварительные данные исследования препарата должны показывать его потенциал в лечении таких заболеваний. После включения препарата в программу, ЕМА действует по определённому алгоритму: 1) назначает специального докладчика из Комитета по передовой терапии — CAT (в случае лекарственного средства передовой терапии — Advanced therapy medicinal products, ATMP), который обеспечивает постоянную поддержку и помощь в сборе необходимых данных для формирования регистрационной заявки; 2) организует стартовое совещание с докладчиком от CHMP/CAT и междисциплинарной группой экспертов с тем, чтобы они дали рекомендации по общему плану разработки препарата; 3) предлагает специальное контактное лицо от ЕМА; 4) предоставляет научные консультации на ключевых этапах разработки с привлечением дополнительных заинтересованных сторон (например, органов по оценке медицинских технологий) для обеспечения более быстрого доступа пациентов к новому лекарству; 5) подтверждает возможность ускоренной оценки лекарственного препарата при подаче заявки на получение регистрационного удостоверения [35].

Для предприятий микро-, малого и среднего бизнеса (micro-, small- and medium-sized enterprises, SMEs), а также для научного сектора возможно проведение бесплатных научных консультаций («fee waivers for scientific advice») по разработке препарата. Кроме того, такие

разработчики могут подавать заявки на включение в программу PRIME, не имея первых результатов КИ, а на основании доклинических исследований и данных о безопасности (переносимости) препарата.

Для некоторых препаратов, в виде исключения, дается разрешение на их применение в условиях больницы (Hospital Exemption Legislation, HE). Согласно Директиве (EC) 1394/2007 все ATMPs подлежат централизованной системе регистрации, однако в соответствии со статьей 28 регламента возможно получение разрешения на использование ATMPs на национальном уровне государствами-членами ЕС без получения разрешения на продажу — «госпитальное исключение». Данная статья распространяется только на изготовленные под заказ препараты, применяемые в условиях больницы по индивидуальным показаниям для определенного пациента в тех случаях, когда не существует зарегистрированного препарата для терапии данного заболевания [36].

В Японии также существует упрощенная процедура регистрации — программа «SAKIGAKE», предназначенная для продвижения исследований и ускоренного выхода на рынок инновационных лекарственных препаратов, медицинских изделий и продуктов для регенеративной медицины. Производитель лекарственного препарата, включенного в список «SAKIGAKE», имеет право на приоритетную консультацию PMDA, предварительный анализ, индивидуальное рассмотрение заявки и некоторые другие нормативно-правовые «смягчения» [37].

Для продуктов регенеративной медицины возможно получение условного и ограниченного по времени разрешения на продажу (Conditional and time-limited approval), в течение которого продолжают исследования безопасности и эффективности препарата. Продолжительность условного разрешения может составлять до 7 лет, и по окончании этого срока производитель должен подать на рассмотрение PMDA/MHLW новую заявку для получения регистрационного удостоверения [38].

В России схемы ускоренной регистрации и выведения на рынок новейших лекарственных препаратов нет, однако в 2014 г. в новую редакцию Федерального закона ФЗ-61 была внесена Статья 26 «Ускоренная процедура экспертизы лекарственных средств», согласно которой для лекарственных препаратов, предназначенных для лечения орфанных заболеваний несовершеннолетних граждан, а также для первых трех воспроизведенных лекарственных препаратов в виде дженериков, регистрируемых в Российской Федерации, возможно проведение ускоренной процедуры экспертизы лекарственных средств для государственной регистрации.

Развитие нового направления генной терапии для доставки нескольких терапевтических генов

Несмотря на многообещающие результаты доклинических исследований в КИ моногенная терапия с доставкой в ткани 1 гена фактора роста оказалась безопасной, но не всегда эффективной. В связи с этим в настоящее время ведется разработка препаратов для генной терапии с помощью нескольких генов, а также изучение возможности применения генно-клеточных и других комбинированных подходов.

Генная терапия с применением нескольких генов уже показала хорошие результаты в регенеративной медицине и лечении дегенеративных заболеваний, поражающих разные ткани и органы. Например, такое заболевание, как остеоартрит имеет сложный патогенез, включающий деградацию хрящевой ткани, её хроническое воспаление и ремоделирование. Исходя из этого,

следует предположить, что комбинированные подходы к лечению будут эффективнее, чем применение одного терапевтического метода, что и было подтверждено в работе A. Stone с соавт. (2018) [39]. Введение мышам с посттравматическим остеоартритом смеси двух генетических векторов, один из которых кодировал протеогликан 4 (лубрицин, PRG4) и обладал хондропротекторными свойствами, тогда как второй вектор кодировал антагонист рецептора IL-1Ra и обеспечивал противовоспалительное действие, оказалось эффективнее, чем использование данных конструкций по отдельности.

Ангиогенез или нейрогенез — это многоэтапные процессы, регулируются различными цитокинами, факторами роста, протеазами и их ингибиторами [40, 41], поэтому применение только одного из факторов (как в виде рекомбинантного белка, так и в виде генетической конструкции) не позволяет добиться значительных эффектов. Одним из вариантов решения данной проблемы является подбор и использование физиологически аддитивных комбинаций факторов.

В случае ангиогенеза примером такой комбинации может служить сочетание фактора роста эндотелия сосудов (VEGF165) и фактора роста гепатоцитов (HGF). Механизмом усиления ангиогенного эффекта при их совместном действии считается амплификация сигналинга, активируемого при связывании лигандов со своими рецепторами (VEGFR2 — для VEGF165 и c-met — для HGF). Например, при стимуляции HUVEC комбинацией VEGF165 и HGF отмечали усиление фосфорилирования MAP-киназ ERK1/2 и p38. Кроме того, под влиянием VEGF165 и HGF происходило аддитивное увеличение экспрессии рецептора VEGFR2 и повышалась продукция FAK — молекулы, регулирующей состояние цитоскелета и фокальные адгезионные контакты между клетками. В результате таких изменений увеличивалась миграционная и пролиферативная активность клеток эндотелия, повышая их ангиогенный потенциал [42]. Ещё одной особенностью взаимодействия VEGF165 и HGF является разнонаправленная модуляция воспаления этими факторами. HGF может подавлять активируемый VEGF165 синтез молекул ICAM-1 и VCAM-1, что приводит к снижению адгезии лейкоцитов, и тем самым уменьшает провоспалительное действие VEGF165 [43]. Основываясь на этих данных, мы предположили, что генная терапия комбинацией VEGF165 и HGF может стать эффективным способом ревазуляризации ишемизированных тканей. На модели ишемии нижней конечности у мышей путем оценки динамики подкожного кровотока с помощью лазерного доплеровского сканирования нами была показана эффективность внутримышечного введения смеси плазмид, кодирующих VEGF165 и HGF. При использовании плазмид с генами как *VEGF165*, так и *HGF*, распространенность некроза, вызванного ишемией, уменьшалась. Минимальная площадь некроза на срезах мышц была отмечена в группе комбинированного введения плазмид с генами *VEGF165* и *HGF*, что согласуется с результатами лазер-доплеровского исследования: перфузия в этой группе была максимальной [44]. Ангиогенный эффект при введении смеси плазмид с генами *VEGF165* или *HGF* также был обнаружен на модели ишемии миокарда у крыс. Генная терапия с помощью комбинации плазмид с генами *VEGF165* и *HGF* стимулировала ангиогенез и уменьшала повреждение миокарда, однако полученный эффект не превосходил эффекта от введения одиночной плазмиды. Стимуляция капиллярогенеза комбинацией плазмид была более эффективной по сравнению с использованием плазмиды с одним ангиогенным фактором роста [45].

В нашей работе, посвященной стимуляции посттравматической реиннервации у мышей, было доказано восстановление травмированного периферического нерва под влиянием плазмид, кодирующих нейротрофический фактор мозга (BDNF) или урокиназный активатор плазминогена (uPA) [46]. Поскольку спектры биологической активности этих белков различны, и они оба играют важную роль в процессах реиннервации, мы предположили, что в комбинации они будут потенцировать активность друг друга. Однако совместное введение генетических конструкций, кодирующих BDNF и uPA, оказало менее выраженный эффект на процессы реиннервации, чем при использовании каждого из этих факторов по-отдельности. Вероятно, это связано с уменьшением количества каждой из генетических конструкций в смеси, вводимой животным, или с дисбалансом соотношений продуцируемых *in vivo* факторов роста.

Использование в терапевтических целях векторов, кодирующих несколько генов, было апробировано не только на животных, но и в клинической практике. В США проходят КИ III фазы препарата VM202 (ViroMed, Южная Корея, США). Препарат содержит плазмиду, несущую гены двух изоформ белка HGF— HGF728 и HGF723, и предназначен для лечения сердечно-сосудистых заболеваний и поражений нервных окончаний. Предыдущие исследования VM202 показали его безопасность и эффективность при лечении диабетической периферической нейропатии, ишемической болезни сердца и бокового амиотрофического склероза [47, 48].

Немаловажную роль, помимо рационального выбора терапевтических генов, играет тщательный дизайн вектора для генной терапии: подбор оптимальных промоторов и других регуляторных элементов конструкции, активность которых может зависеть как от вида животного, так и от типа трансфицируемой ткани [49–51].

Следует отметить, что одновременное введение нескольких генов имеет ряд недостатков: непрогнозируемый характер ко-трансфекции клеток двумя генетическими конструкциями, различия уровня экспрессии вводимых генов и, как следствие, снижение эффективности их совместного действия. Кроме того, при введении смеси векторов не представляется возможным предсказать эффективность трансфекции клеток каждым из них, воспроизводимо описать их фармакокинетику и концентрацию в тканях кодируемых АФР, что значительно затрудняет фармацевтическую разработку лекарственных средств на основе комбинации двух и более генетических конструкций. Перспективным способом преодоления этих ограничений является разработка би- и мультицистронных векторов, т.е. таких генетических конструкций, которые позволяют осуществлять одновременную доставку двух и более генов. Так, недавно на модели травмы периферического нерва у мыши нами была показана достаточно высокая эффективность применения бицистронной генетической конструкции, обеспечивающей трансляцию BDNF и uPA с бицистронной РНК в соотношении ~10:1 за счет использования IRES вируса гепатита С [52]. Наши экспериментальные данные позволяют предположить существование множества других перспективных комбинаций факторов роста для стимуляции восстановления нервных окончаний, в том числе и с применением плейотропных и проангиогенных белков (например, HGF или VEGF) [53, 54].

Эффективность генной терапии и её результат (например, ангиогенез) напрямую зависит от типа выбранного вектора. Использование вирусных конструкций даёт возможность осуществлять трансфекцию с высокой эффективностью и длительным периодом экспрессии

(от 1 месяца до постоянной экспрессии) вводимых генов, но, к сожалению, может вызывать иммунный ответ и злокачественную трансформацию клеток. Плазмидные векторы обладают гораздо более высоким профилем безопасности, но их терапевтическая активность ограничена низкой эффективностью трансфекции и сравнительно небольшими количествами синтезируемого белка при однократном введении. Однако, благодаря низкой иммуногенности плазмид или её отсутствию возможно их повторное введение, что может решить эту проблему.

Терапевтическая доза, кратность, продолжительность и способ введения также, безусловно, влияют на результат генной терапии, и эти вопросы требуют дополнительного тщательного изучения. Успех подбора оптимальных «условий» для генной терапии того или иного заболевания зависит от полноты и глубины проведенных доклинических исследований.

Существующая схема разработки биологических препаратов включает их тестирование на клеточных линиях, полученных из клеток различных тканей человека, а затем *in vivo* на животных (обычно на мышах). Для генотерапевтических препаратов применение такого алгоритма может быть ограничено. Во-первых, как уже было сказано, некоторые генные векторы обладают видоспецифичностью и могут быть эффективны при введении в клетки человека, но не в клетки грызунов (или наоборот), во-вторых, доклинические исследования, как правило, проводят на молодых, здоровых животных, в то время как возраст, образ жизни и сопутствующие заболевания пациента могут влиять на эффективность терапии [55]. Эти особенности учитываются в руководствах FDA и EMA, вплоть до отказа от использования животных в доклинических исследованиях, если невозможно смоделировать у них соответствующее заболевание [56]. Для того, чтобы создание подобных лекарств было более эффективным и экономически выгодным, исследователям необходимо подбирать наиболее подходящие для каждого случая клеточные линии, виды животных и модели заболеваний, а приоритет при разработке препаратов должен быть направлен на оценку безопасности и эффективности в КИ.

Заключение

На основании выше изложенного, можно сделать следующие выводы.

1) Препараты для ГТ в настоящий момент активно разрабатываются как в РФ, так и в мире; накоплен определенный опыт по проведению доклинических и клинических исследований генотерапевтических препаратов.

2) Терапевтический потенциал генотерапевтических средств напрямую зависит от дизайна вектора (как вирусного, так и невирусного), который обеспечивает доставку и определяет параметры безопасности и эффективности препарата.

3) Фармакологические свойства препаратов для ГТ являются уникальными и подбор дозировки, кратности и способа введения является нетривиальной задачей; изучение эффективности и безопасности разрабатываемых препаратов требует тщательного планирования исследований, причем все большее внимание уделяется подбору релевантных биологических моделей.

4) Поскольку многие инновационные препараты предназначены для лечения орфанных заболеваний или состояний, для которых не разработаны методы терапии, особенно важно осуществление быстрого перехода препарата от стадии разработки в клиническую практику. В данном вопросе РФ может ориентироваться на существующие

в ряде стран мира программы ускоренной регистрации и выведения на рынок инновационных препаратов.

5) В области регенеративной медицины наиболее перспективными на ближайшее время останутся разработки, использующие принцип комбинированной генной терапии, однако создание эффективной и безопасной векторной системы всегда будет первоочередной задачей, определяющей дальнейшую судьбу препарата для генной терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. FDA. Chemistry, manufacturing, and control (CMC) information for human gene therapy investigational new drug applications (INDs); Draft guidance for industry. 2018, <https://www.fda.gov/media/113760/download>.

2. Hacein-Bey-Abina S., Von Kalle C., Schmidt M. et al. LMO2-associated clonal T-cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science* 2003; 302(5644): 415–9.

3. Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science* 2012; 669(2000): 669–72.

4. Ginn S.L., Amaya A.K., Alexander I.E. et al. Gene therapy clinical trials worldwide to 2017: An update. *J. Gene Med.* 2018; 20(5): 1–16.

5. Liebert M.A. Current status of gene therapy in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. *Gene Med.* 2005; 16(9): 1016–27.

6. Zhang W.W., Li L., Li D. et al. The first approved gene therapy product for cancer Ad-p53 (Gendicine): 12 years in the clinic. *Hum. Gene Ther.* 2018; 29(2): 160–79.

7. EMEA. Summary of product characteristics — Glybera. 2012.

8. Spark Therapeutics I. LUXTURNА (voretigene neparvovec-rzyl). 2017; 1–16.

9. EMEA. Summary of product characteristics — Imlygic. 2016.

10. Liang M. Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China. *Curr. Cancer Drug Targets* 2018; 18(2): 171–6.

11. FDA. Summary basis for regulatory action — ZOLGENSMA. 2019.

12. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Власенко О.Н. и др. Пятилетние результаты лечения больных хронической ишемией нижних конечностей с использованием генной терапии. *Ангиология и сосудистая хирургия* 2016; 22(4): 38–44. [Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Vlasenko O.N. et al. Five-year results of treatment of patients with chronic lower limb ischemia using gene therapy. *Angiology and Vascular Surgery* 2016; 22(4): 38–44.]

13. Deev R.V., Bozo I.Y., Mzhavanadze N.D. et al. PCMV-vegf165 intramuscular gene transfer is an effective method of treatment for patients with chronic lower limb ischemia. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2015; 20(5): 473–82.

14. Deev R., Plaksa I., Bozo I. et al. Results of an international postmarketing surveillance study of pl-VEGF165 safety and efficacy in 210 patients with peripheral arterial disease. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* 2017; 17(3): 235–42.

15. AnGes. Announces amendment to the global development of HGF plasmid for critical limb ischemia. 2016; 2–3.

16. EMEA. Strimvelis — summary of product characteristics. 2017.

17. FDA. Summary basis for regulatory action — Kymriah. 2017.

18. EMEA. Yescarta — Summary of product characteristics. 2018.

19. EMEA. Zalmoxis — Summary of product characteristics. 2016.

20. Shahryari A., Saghaeian Jazi M., Mohammadi S. et al. Development and clinical translation of approved gene therapy products for genetic disorders. *Front. Genet.* 2019; 10: 868.

21. Yinglun S.S. Korea cancels approval of gene therapy Invossa for false reporting of ingredient, http://www.xinhuanet.com/english/2019-05/28/c_138097183.htm.

22. Han-soo L. Regulator under fire for neglecting reported side effects of Invossa. 23.

23. Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 № 61-ФЗ (ред. от 06.06.2019). [Federal Law «On the Circulation of Medicines» dated 12.04.2010 № 61-FL (as amended on 06.06.2019)].

24. Борисов А., Борисова М., Вайпан Д. Комментарий к Федеральному закону от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». 2-е изд., доп. и перераб. Москва: Юстицинформ; 2018. [Borisov A., Borisova M., Vaipan D. Commentary on the Federal Law of June 23, 2016 № 180-FL «On Biomedical Cellular Products». 2nd ed. Moscow: Justicinform; 2018.]

25. Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 (ред. от 18.12.2015) «Об утверждении правил надлежащей производственной практики». 2015. [Order of the Ministry of Industry and Trade of Russia dated 14.06.2013 № 916 (Rev. dated 18.12.2015) «On the Approval of the Rules of Good Manufacturing Practice». 2015.]

26. Росздравнадзор зарегистрировал первый в мире ген-активированный материал для костной пластики. *Медвестник* 2019, <https://medvestnik.ru/content/news/Roszdraznador-zaregistroval-pervyi-v-mire-gen-aktivirovannyi-material-dlya-kostnoi-plastiki.html> [Roszdraznador registered the world's first gene-activated material for bone grafting. *Medmessenger*. 2019.]

Благодарности

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В. Ломоносова при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 18-015-00535. В работе были использованы коллекции клеточных культур и генетических конструкций, собранных и сохраняемых в рамках проекта «Ноев ковчег», и оборудование, приобретенное за счет средств Программы развития МГУ им. М.В. Ломоносова.

27. Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я. и др. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген VEGF человека. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* 2013; VIII(3): 78–85. [Deev R.V., Drobyshev A.Yu., Bozo I.Ya. et al. Creation and evaluation of the biological effect of gene-activated osteoplastic material carrying the human VEGF gene. *Cellular transplantation and tissue engineering* 2013; VIII(3): 78–85.]

28. FDA. Fast Track. 2018, <https://www.fda.gov/patients/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review/fast-track>.

29. FDA. Breakthrough Therapy, <https://www.fda.gov/patients/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review/breakthrough-therapy>.

30. FDA. Priority Review, <https://www.fda.gov/patients/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review/priority-review>.

31. FDA. Accelerated Approval, <https://www.fda.gov/patients/fast-track-breakthrough-therapy-accelerated-approval-priority-review/accelerated-approval>.

32. FDA. Expedited programs for regenerative medicine therapies for serious conditions. 2019; 17.

33. Van Norman G.A. Expanding patient access to investigational drugs: single patient investigational new drug and the «Right to try». *JACC Basic to Transl. Sci.* Elsevier 2018; 3(2): 280–93.

34. Patrick Celis. Advanced therapy medicinal products (ATMPs) and ATMP Regulation. RD-ACTION, European Medicines Agency, and European Commission-DG SANTE workshop: how European Reference Networks can add value to clinical research; 29 May 2018.

35. EMA. PRIME: priority medicines, <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/prime-priority-medicines>.

36. Yano K., Yamato M. Compassionate use and hospital exemption for regenerative medicine: Something wrong to apply the program for patients in a real world. *Regen. Ther.* Elsevier Taiwan LLC 2018; 8: 63–4.

37. Kondo H., Hata T., Ito K. et al. The current status of Sakigake designation in Japan, PRIME in the European Union, and Breakthrough Therapy designation in the United States. *Ther. Innov. Regul. Sci.* 2017; 51(1): 51–4.

38. Sietsema W.K., Takahashi Y., Ando K. et al. Japan's conditional approval pathway for regenerative medicines. *Regul. Focus* 2018; 1–18.

39. Stone A., Grol M.W., Ruan M.Z.C. et al. Combinatorial Prtg4 and Il-1ra gene therapy protects against hyperalgesia and cartilage degeneration in post-traumatic osteoarthritis. *Hum. Gene Ther.* 2018; 30(2): 225–35.

40. Betz C., Lenard A., Belting H.G. et al. Cell behaviors and dynamics during angiogenesis. *Development* 2016; 143: 2249–60.

41. Карагяур М.Н., Макаревич П.И., Шевченко Е.К. и др. Современные подходы к регенерации периферических нервов после травмы: перспективы генной и клеточной терапии. *Гены и Клетки* 2017; 12(1): 6–14. [Karagyaur M.N., Makarevich P.I., Shevchenko E.K. et al. Modern approaches to peripheral nerve regeneration after injury: The prospects of gene and cell therapy. *Genes & Cells* 2017; 12(1): 6–14.]

42. Sulpice E., Ding S., Muscatelli-Groux B. et al. Cross-talk between the VEGF-A and HGF signalling pathways in endothelial cells. *Biology of the Cell* 2009; 101(9): 525–39.

43. Min J.K., Lee Y.M., Jeong H.K. et al. Hepatocyte growth factor suppresses vascular endothelial growth factor-induced expression of endothelial ICAM-1 and VCAM-1 by inhibiting the nuclear factor- κ B pathway. *Circ. Res.* 2005; 96(3): 300–7.

44. Makarevich P., Tsokolaeva Z., Shevelev A. et al. Combined transfer of human VEGF165 and HGF genes renders potent angiogenic effect in ischemic skeletal muscle. *PLoS One* 2012; 7(6): 1–13.

45. Makarevich P.I., Dergilev K.V., Tsokolaeva Z.I. et al. Angiogenic and pleiotropic effects of VEGF165 and HGF combined gene therapy in a rat model of myocardial infarction. *PLoS One* 2018; 13(5): 1–25.

46. Karagyaur M., Dykanov D., Makarevich P. et al. Non-viral transfer of BDNF and uPA stimulates peripheral nerve regeneration. *Biomed. Pharmacother.* 2015; 74: 63–70.

47. Kibbe M., Hirsch A., Mendelsohn F. et al. Safety and efficacy of plasmid DNA expressing two isoforms of hepatocyte growth factor in patients with critical limb ischemia. *Gene Ther.* 2016; 23(3): 306–12.

48. Kessler J.A., Smith A.G., Cha B.S. et al. Double-blind, placebo-controlled study of HGF gene therapy in diabetic neuropathy. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2015; 2(5): 465–78.

49. Wong E.T., Ngoi S.M., Lee C. Improved co-expression of multiple genes in vectors containing internal ribosome entry sites (IRESes) from human genes. *Gene Ther.* 2002; 9: 337–44.

50. Licursi M., Christian S.L., Pongnopparat T. et al. In vitro and in vivo comparison of viral and cellular internal ribosome entry sites for bicistronic vector expression. *Gene Ther.* 2011; 18: 631–6.

51. Qin J.Y., Zhang L., Clift K.L. et al. Systematic comparison of constitutive promoters and the doxycycline-inducible promoter. *PLoS One* 2010; 5(5): 1–4.

52. Karagyaur M., Rostovtseva A., Semina E. et al. A bicistronic plasmid encoding brain-derived neurotrophic factor and urokinase plasminogen activator stimulates peripheral nerve regeneration after injury. *J. Pharm. Exp. Ther.* 2019; 372(3): 248–55.

53. Moimas S., Novati F., Ronchi G. et al. Effect of vascular endothelial growth factor gene therapy on post-traumatic peripheral nerve regeneration and denervation-related muscle atrophy. *Gene Ther.* 2013; 20: 1014–21.

54. Boldyreva M.A., Bondar I.V., Stafeev I.S. et al. Plasmid-based gene therapy with hepatocyte growth factor stimulates peripheral nerve regeneration after traumatic injury. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2018; 101(5): 682–90.

55. Pilaro A., Serabian M. Preclinical development strategies for novel gene therapeutic products. *Toxicol. Pathol.* 1999; 27: 4–7.

56. EMA. Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. *Eur. Med. Agency Guidel.* 2018; 44(1): 1–41.

Поступила: 08.10.2019