



Доклиническая разработка педиатрических орфанных генотерапевтических препаратов: анализ подходов и проблем (обзор)

А.М. Азарова , Н.А. Гаврилова , М.В. Тихомирова 

Акционерное общество «ГЕНЕРИУМ», ул. Заводская, стр. 273, пос. Вольгинский, городской округ Покров, Владимирская область, 601125, Российская Федерация

✉ Азарова Анна Михайловна; azarova@generium.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Отсутствие единых регуляторных требований к доклиническим исследованиям (ДКИ) педиатрических орфанных генотерапевтических лекарственных препаратов (ГТЛП) затрудняет их разработку и регистрацию. В обзоре систематизированы основные особенности ДКИ таких препаратов и проанализирован успешный опыт двух зарегистрированных ГТЛП для обоснования подходов к ускорению вывода новых препаратов на рынок.

ЦЕЛЬ. Критический анализ мирового опыта доклинической разработки ГТЛП для выявления ключевых проблем ДКИ и оптимизации дизайна исследований педиатрических орфанных ГТЛП для ускорения их перехода в клиническую практику.

ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ литературных источников проводили в базах PubMed, Embase, Google Scholar, eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, а также на сайтах ведущих регуляторных органов за период 2020–2026 гг. В мире зарегистрировано около 20 ГТЛП, включая три препарата в Российской Федерации. Установлено, что дизайн ДКИ педиатрических орфанных ГТЛП базируется на принципе весомости доказательств и требует индивидуального подхода. Ключевыми элементами программы доклинической разработки являются исследование биораспределения вектора и трансгена, оценка экспрессии трансгена в целевых и нецелевых тканях, а также изучение выделения (шеддинга) вектора. Решающим фактором разработки выступает валидация модели на животных по клинически значимым конечным точкам. На примере препарата Элевидис для лечения мышечной дистрофии Дюшенна продемонстрирована важность оценки функциональных исходов (двигательная активность) и коррекции гистологических изменений (уменьшение некроза мышечной ткани), а на примере препарата Золгенсма для лечения спинальной мышечной атрофии — значимость снижения летальности как основной конечной точки. Выявлено, что оценка безопасности ГТЛП сопряжена с необходимостью анализа неопределенностей (долгосрочные риски, иммуногенность), которые регуляторные органы признают допустимыми в условиях отсутствия альтернативной терапии. Полученные данные подтверждают необходимость раннего взаимодействия разработчиков с регуляторными органами для оптимизации программ ДКИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Систематизированы особенности доклинической разработки педиатрических орфанных ГТЛП, ключевыми из которых являются гибкость дизайна на основе принципов весомости доказательств, проведение исследования биораспределения трансгена и самого вектора, приоритет функциональных конечных точек, тщательная валидация модели на животных и раннее взаимодействие с регуляторными органами. Практическая значимость работы заключается в обосновании подхода, позволяющего разработчикам оптимизировать программы ДКИ, а экспертам регуляторных органов — гармонизировать оценку эффективности и безопасности, что ускорит выход жизненно важных препаратов в клиническую практику для педиатрических пациентов с орфанными заболеваниями.

Ключевые слова: генная терапия; орфанные заболевания; педиатрия; доклинические исследования; генотерапевтические препараты; модели на животных; медицинская правдоподобность; весомость доказательств; конечные точки; биораспределение; безопасность лекарственных препаратов; эффективность лекарственных препаратов

Для цитирования: Азарова А.М., Гаврилова Н.А., Тихомирова М.В. Доклиническая разработка педиатрических орфанных генотерапевтических препаратов: анализ подходов и проблем (обзор). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2026;26(2):144–158. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-2-144-158>

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Preclinical development of pediatric orphan gene therapy medicinal products: Analysis of approaches and challenges (review)

Anna M. Azarova [✉], Natalia A. Gavrilova ^{ID}, Mariia V. Tikhomirova ^{ID}

GENERIUM JSC, 273 Zavodskaya St., Volginsky, Pokrov, Vladimir Region 601125, Russian Federation

✉ Anna M. Azarova; azarova@generium.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The lack of uniform regulatory requirements for preclinical studies (PCS) of pediatric orphan gene therapy medicinal products (GTMPs) complicates their development and marketing authorization. This review summarizes the key features of PCS for such products and analyzes the successful experience with two registered GTMPs to support approaches for accelerating the market entry of new products.

AIM. This study aimed to critically analyze global experience in the preclinical development of GTMPs to identify key challenges in PCS and to optimize the design of studies on pediatric orphan GTMPs for expediting their translation into clinical practice.

DISCUSSION. A literature search was conducted in PubMed, Embase, Google Scholar, eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, and on the websites of leading regulatory agencies for the period 2020–2026. Currently, about 20 GTMPs are registered worldwide, including three products in the Russian Federation. The design of PCS for pediatric orphan GTMPs was found to be based on the weight-of-evidence principle and requires an individualized approach. Key elements of the preclinical development program include biodistribution studies of the vector and transgene, assessment of transgene expression in target and non-target tissues, and evaluation of vector shedding. The critical success factor is validation of the animal model using clinically relevant endpoints. Using Elevidys (Duchenne muscular dystrophy) as an example, the importance of assessing functional outcomes (motor activity) and correcting histological changes (reduction of muscle tissue necrosis) was demonstrated, while Zolgensma (spinal muscular atrophy) illustrated the significance of mortality reduction as the primary endpoint. The safety assessment of GTMPs is associated with the need to analyze uncertainties (long-term risks, immunogenicity), which regulatory authorities consider acceptable in the absence of alternative therapy. The obtained data confirm the necessity of early engagement between developers and regulators to optimize PCS programs.

CONCLUSIONS. The performed analysis has systematized the specific features of preclinical development of pediatric orphan GTMPs, the key ones being flexibility of design based on weight-of-evidence principles, biodistribution studies of the transgene and the vector itself, prioritization of functional endpoints, thorough validation of the animal model, and early interaction with regulatory authorities. The practical significance of the work lies in substantiating an approach that enables developers to optimize PCS programs and helps regulatory experts harmonize the assessment of efficacy and safety, thereby accelerating the entry of life-saving medicinal products into clinical practice for pediatric patients with orphan diseases.

Keywords: gene therapy; orphan diseases; pediatrics; preclinical studies; gene therapy medicinal products; animal models; medical plausibility; weight of evidence; endpoints; biodistribution; medicinal product safety; medicinal product efficacy

For citation: Azarova A.M., Gavrilova N.A., Tikhomirova M.V. Preclinical development of pediatric orphan gene therapy medicinal products: Analysis of approaches and challenges (review). *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2026;26(2):144–158. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-2-144-158>

Funding. The study was performed without external funding.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Редкие (орфанные) заболевания характеризуются высокой неудовлетворенной медицинской потребностью. Для большинства таких заболеваний варианты лечения ограничены или отсутствуют, при этом значительная доля приходится на детский возраст. Разработка методов лечения орфанных заболеваний у детей является актуальной проблемой в мире и в Российской Федерации; в последнее десятилетие этому направлению уделяется большое внимание на государственном уровне.

Международная классификация болезней (МКБ-11) включает регулярно обновляемый список около 5500 редких заболеваний¹. Перечень Минздрава Российской Федерации на 03.04.2026 содержит 297 орфанных заболеваний². В России к орфанным относят редкие патологии с распространенностью не более 10 случаев на 100 тыс. населения³. Эти состояния часто угрожают жизни или приводят к хронической инвалидизации, что подчеркивает необходимость разработки эффективных методов лечения. Для большинства орфанных заболеваний отсутствуют альтернативные варианты лечения.

Сложность доклинической разработки орфанных препаратов связана прежде всего с поиском терапевтической мишени и разработкой экспериментальной модели на животных, адекватно отражающей патофизиологию заболевания у человека. Как правило, такая модель создается с использованием платформенных технологий и требует дополнительных временных и материальных ресурсов. Такие модели помогают выяснению этиологии и патофизиологии заболеваний и важны для открытия и разработки новых методов лечения [1]. Однако прогностическая способность *in vivo* моделей в оценке эффективности и выборе доз может быть низкой из-за значительных видовых различий метаболизма у животных и человека [2].

Другим важным аспектом разработки орфанных препаратов является необходимость проведения терапии до появления необратимых патофизиологических изменений в организме, что обуславливает лечение преимущественно в педиатрической популяции. Редкость заболевания и малое количество пациентов ограничивают проведение полноценных крупномасштабных клинических исследований для доказательства эффективности и безопасности лекарственных препаратов (ЛП). Поэтому доклинические данные должны убедительно обосновывать безопасность перехода к клиническим исследованиям и эффективность лечения.

Одним из наиболее перспективных направлений патогенетической терапии таких заболеваний является генная терапия, направленная на манипуляцию экспрессией определенного гена или изменение биологических свойств клеток, предназначенная для однократного введения. Генотерапевтические лекарственные препараты (ГТЛП) согласно Федеральному закону Российской Федерации № 61-ФЗ – «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»⁴. ГТЛП оптимальны для педиатрических орфанных заболеваний, поскольку наследственные заболевания часто манифестируют в младенчестве или детстве, а длительный терапевтический эффект наиболее значим при раннем начале терапии. Достижение длительного эффекта при однократном введении лекарственного препарата – главное преимущество ГТЛП.

С учетом технологии производства и области применения к разработке ГТЛП применимы регуляторные требования к высокотехнологичным,

¹ <https://www.who.int/standards/classifications/frequently-asked-questions/rare-diseases>

² <https://minzdrav.gov.ru/documents/9863-perechen-redkih-orfannyh-zabolevaniy>

³ Федеральный закон РФ от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

⁴ Там же.

орфанным и педиатрическим препаратам⁵. Единые подходы к проведению ДКИ орфанных ГТЛП отсутствуют. Это обусловлено относительно небольшим опытом разработки таких препаратов и их экспертной оценки (активное развитие – в последнее десятилетие), широким спектром ГТЛП и быстрым развитием молекулярно-генетических технологий.

Цель работы – критический анализ мирового опыта доклинической разработки ГТЛП для выявления ключевых проблем ДКИ и оптимизации дизайна исследований педиатрических орфанных ГТЛП для ускорения их перехода в клиническую практику.

Анализ литературных источников проводили в базах PubMed, Embase, Google Scholar, eLIBRARY.RU, cyberleninka.ru, а также сайтах ведущих регуляторных органов⁶ за период 2020–2026 гг. Поиск проводили с использованием ключевых слов: «генная терапия», «орфанные заболевания», «лекарственные препараты для передовой терапии (АТМР)», «доклинические исследования», «gene therapy», «orphan disease», «advanced therapy medicinal products (АТМР)», «preclinical development».

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Нормативно-правовое и научно-методическое регулирование, регламентирующее доклинические исследования педиатрических орфанных ГТЛП

Согласно Решению Совета Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) № 78⁷ орфанные

препараты предназначены для лечения, диагностики или профилактики редких болезней. Генная терапия основана на введении пациенту препаратов, содержащих рекомбинантные нуклеиновые кислоты, генетически модифицированные микроорганизмы или вирусы⁸. Генная терапия может осуществляться путем доставки функциональной копии гена в клетку, редактирования генома эндонуклеазами или использования онколитических вирусов. Основные требования к проведению ДКИ безопасности педиатрических препаратов представлены в Руководстве по экспертизе лекарственных средств⁹, а также в обзоре Г.Н. Енгальцевой и Р.Д. Сюбаева [3]. Подходы к доклинической оценке безопасности ГТЛП и риски их применения описаны ранее [4–6].

Стратегия ДКИ для педиатрических орфанных ГТЛП основывается на их фармакологических и физико-химических характеристиках, показаниях, возрасте пациентов, тяжести заболевания (включая скорость прогрессирования), дизайне клинических исследований, доступности альтернативных методов лечения и ожидаемых рисках с учетом накопленных доклинических и клинических данных¹⁰. При составлении программы ДКИ рекомендуется применять подход весомости доказательств (weight of evidence, WoE) для обоснования безопасности ЛП и целесообразности проведения или исключения отдельных видов токсикологических исследований¹¹. Анализ всех доступных доклинических данных критически важен

⁵ Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

Guideline on clinical trials in small populations. CHMP/EWP/83561/2005. EMA; 2007.

Решение Коллегии ЕЭК от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов».

Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use. EMA/CHMP/QWP/805880/2012 Rev. 2. EMA; 2013.

Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA/CAT/80183/2014. EMA; 2018.

ICH guideline S11 on nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals – Step 5. EMA/CHMP/ICH/616110/2018. EMA; 2020.

⁶ <https://www.ema.europa.eu/>

<https://www.fda.gov/>

<https://www.hma.eu/>

<https://www.gov.uk/government/organisations/medicines-and-healthcare-products-regulatory-agency>

⁷ Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

⁸ Chemistry, manufacturing, and control information for human gene therapy investigational new drug applications. Guidance for industry. 2008-D-0205. FDA; 2020.

⁹ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том 3. Экспертиза качества и безопасность лекарственных средств. М.: Типография Миттель Пресс; 2025.

¹⁰ Pediatric drug development: regulatory considerations – complying with the pediatric research equity act and qualifying for pediatric exclusivity under the best pharmaceuticals for children act. FDA-2005-D-0460. FDA; 2023.

Human gene therapy for rare diseases. Guidance for industry. FDA-2018-D-2258. CDER, FDA; 2020.

Rare diseases: considerations for the development of drugs and biological products; Guidance for industry. FDA-2015-D-2818. FDA, CDER/CBER; 2023.

¹¹ ICH S1B(R1) Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals. EMA/774371/2022. EMA, 2022.

ICH S5 (R3) guideline on detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals – Step 5 – Revision 4. EMA/CHMP/ICH/544278/1998. EMA; 2023.

для планирования и интерпретации результатов ДКИ, а также для экспертизы безопасности.

Программа ДКИ ГТЛП, в том числе педиатрических, включает исследования специфической активности, фармакокинетики и общетоксического действия, которые рекомендуется объединять. Для ГТЛП исследования фармакокинетики, как правило, заменяют исследованиями биораспределения в тканях. Дополнительно оценивают риск для окружающей среды (экотоксичность), вертикальный перенос генов и инсерционный мутагенез. Токсические эффекты необходимо оценить в отношении самого ГТЛП и продуктов экспрессии. ДКИ способствуют пониманию механизма действия, метаболизма, фармакодинамики и потенциальной эффективности препарата. Данные ДКИ важны для ранних стадий клинической разработки, особенно для выбора начальной дозы, схемы повышения дозы, режима дозирования и способа введения. Доклинические данные помогают в выборе критериев отбора пациентов и определяют процедуры мониторинга безопасности на основе наблюдаемого токсикологического профиля.

Основные требования к проведению ДКИ безопасности ГТЛП изложены в документах Европейского медицинского агентства (European Medicines Agency, EMA), Управления по контролю за продуктами питания и лекарственными средствами США (US Food and

Drug Administration, FDA), Международного совета по гармонизации (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) [7]. Однако такие аспекты, как объем и дизайн ДКИ, возможность повторного введения, доказательство безопасности для детей, остаются не полностью регламентированными. В мировой практике эти вопросы обсуждаются при непосредственном взаимодействии разработчика с регуляторными органами в рамках научных консультаций [8].

В нормативных правовых актах Российской Федерации и Евразийского экономического союза конкретные требования к проведению ДКИ ГТЛП отсутствуют. К разработке высокотехнологичных ЛП, в том числе ГТЛП, может применяться подход, основанный на анализе риска для определения объема необходимых сведений и требований к ДКИ [9]. Разработка программы ДКИ направлена на получение сведений, достаточных для оценки соотношения пользы и риска применения препарата у людей. На требования к ДКИ ГТЛП влияют их особенности, связанные с потенциальными *in vivo* эффектами трансгена, вектора (вирусных, бактериальных или плазмидных последовательностей) и вспомогательных веществ.

В таблице 1 обобщены российские и международные требования к объему и видам ДКИ.

Таблица 1. Регуляторные руководства для проведения доклинических исследований педиатрических орфанных ГТЛП
Table 1. Regulatory guidelines for conducting preclinical studies of pediatric orphan GTMPs

Вид исследования <i>Study type</i>	Руководства для ГТЛП/ВТЛП <i>Guidelines for GTMPs/ATMPs</i>	Руководства для орфанных препаратов <i>Guidelines for orphan medicinal products</i>	Руководства для педиатрических препаратов <i>Guidelines for pediatric medicinal products</i>
Фармакодинамика и исследования механизма действия <i>in vitro</i> и/или <i>ex vivo</i> и <i>in vivo</i> <i>Pharmacodynamics and mechanism of action studies in vitro and/or ex vivo and in vivo</i>	EMA/CAT/80183/2014 ^a FDA-2021-D-0398 ^b Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 <i>Decision of the EEC Council of November 3, 2016 No. 78</i>	EMA/420706/2018 Rev. 19 ^m FDA-2015-D-2818 ⁿ Regulation (EC) No. 141/2000 of the European Parliament and of the Council of 16 December 1999 on orphan medicinal products	EMA/CHMP/QWP/805880/2012 Rev. 2 ^e EMA/CHMP/ICH/616110/2018 ^o EMA/CHMP/SWP/169215/2005 ^q ICH M3(R2). CPMP/ICH/286/95 ^r ICH E11(R1). CPMP/ICH/2711/99 ^s ICH S5 (R3). EMA/CHMP/ICH/544278/1998 ^t ICH S8. CHMP/167235/200 ^u EMA/536810/200 ^v 2003D-0001 ^w FDA-2005-D-0460 ^x
Токсикология, местная переносимость <i>Toxicology, local tolerance</i>	Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89 <i>Decision of the EEC Council of November 3, 2016 No. 89</i>		
Фармакокинетика/биораспределение и длительность экспрессии <i>Biodistribution and persistence</i>	EMA/CHMP/ICH/318372/2021 ^c EMA/CHMP/ICH/449035/2009 ^d		
Репродуктивная токсичность <i>Reproductive toxicity</i>	EMA/273974/2005 ^e CHMP/ICH/469991/2006 ^f		
Экотоксичность <i>Environmental risk assessment</i>	EMA/CHMP/GTWP/125491/2006 ^g EMA/CHMP/ICH/449035/2009 ^d		
Исследования для первого применения у человека <i>Preclinical studies (before first-in-human use)</i>	EMA/CHMP/GTWP/125459/2006 ^h		

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Вид исследования <i>Study type</i>	Руководства для ГТЛП/ВТЛП <i>Guidelines for GTMPs/ATMPs</i>	Руководства для орфанных препаратов <i>Guidelines for orphan medicinal products</i>	Руководства для педиатрических препаратов <i>Guidelines for pediatric medicinal products</i>
Исследования модификаций дизайна ГТЛП <i>Studies of design modifications of GTMPs</i>	EMA/CAT/GTWP/44236/2009 ⁱ	Приведены выше / <i>Listed above</i>	Приведены выше / <i>Listed above</i>
Исследования рекомбинантных аденоассоциированных вирусных векторов <i>Studies of recombinant adeno-associated viral vectors</i>	EMA/CHMP/GTWP/587488/2007 Rev. 1 ^j		
Исследования онколитических вирусных векторов <i>Studies of oncolytic viral vectors</i>	EMA/CHMP/ICH/607698/2008 ^k		
Исследование лентивирусных векторов <i>Studies of lentiviral vectors</i>	CHMP/BWP/2458/03 ^l		
Другие исследования токсичности: иммуногенность и иммуноотоксичность, вертикальный перенос генов, инсерционный мутагенез и онкогенный потенциал, провоспалительный цитокиновый шторм и др. <i>Other toxicity studies: immunogenicity and immunotoxicity, vertical germline transmission, insertional mutagenesis and oncogenic potential, pro-inflammatory cytokine storm, etc.</i>	FDA-2021-D-0398 ^b Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 <i>Decision of the EEC Council of November 3, 2016 No. 78</i>		

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

Примечание. ГТЛП – генотерапевтический лекарственный препарат; ВТЛП – высокотехнологичный лекарственный препарат; ЕЭК – Евразийская экономическая комиссия.

Note. GTMP, gene therapy medicinal product; ATMP, advanced therapy medicinal product; EEC, Eurasian Economic Commission.

^a Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA/CAT/80183/2014. EMA; 2018.

^b Human gene therapy products incorporating human genome editing; Guidance for industry. FDA-2021-D-0398. FDA, CBER; 2024.

^c ICH guideline S12 on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products – Step 2b. Scientific guideline; Step 5. EMA/CHMP/ICH/318372/2021. EMA; 2023.

^d ICH consideration: General principles to address virus and vector shedding. Scientific guideline. EMA/CHMP/ICH/449035/2009. EMA; 2009.

^e Guideline on non-clinical testing for inadvertent germline transmission of gene transfer vectors. Scientific guideline. EMA/273974/2005. EMA; 2006.

^f International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use considerations: General principles to address the risk of inadvertent germline integration of gene therapy vectors. CHMP/ICH/469991/2006. EMA; 2006.

^g Guideline on scientific requirements for the environmental risk assessment of gene therapy medicinal products. EMA/CHMP/GTWP/125491/2006. EMA; 2008.

^h Guideline on the non-clinical studies required before first clinical use of gene therapy medicinal products. EMA/CHMP/GTWP/125459/2006. EMA; 2008.

ⁱ Reflection paper on design modification of gene therapy medicinal products during development. EMA/CAT/GTWP/44236/2009. EMA; 2009.

^j Reflection paper on quality, non-clinical and clinical issues related to the development of recombinant adeno-associated viral vectors. EMA/CHMP/GTWP/587488/2007 Rev. 1. EMA; 2007.

^k International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use considerations: Oncolytic viruses. EMA/CHMP/ICH/607698/2008. EMA; 2009.

^l Guideline on development and manufacture of lentiviral vectors. CHMP/BWP/2458/03. EMA; 2005.

^m Procedural advice for orphan medicinal product designation: Guidance for sponsors. EMA/420706/2018 Rev. 19. EMA; 2026

ⁿ Rare diseases: considerations for the development of drugs and biological products; Guidance for industry. FDA-2015-D-2818. FDA, CDER/CBER; 2023.

^o Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use. EMA/CHMP/QWP/805880/2012 Rev. 2. EMA; 2013.

^p ICH guideline S11 on nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals – Step 5. EMA/CHMP/ICH/616110/2018. EMA; 2020.

^q Guideline on the need for non-clinical testing in juvenile animals of pharmaceuticals for paediatric indications. EMA/CHMP/SWP/169215/2005. EMA; 2008.

^r ICH guideline M3(R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals – Step 5. CPMP/ICH/286/95. EMA; 2013.

^s ICH guideline E11(R1) on clinical investigation of medicinal products in the paediatric population – Revision 1 (addendum). EMA/CPMP/ICH/2711/1999. EMA; 2018.

^t ICH S5 (R3) guideline on detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals – Step 5 – Revision 4. EMA/CHMP/ICH/544278/1998. EMA; 2023.

^u ICH guideline S8 on immunotoxicity studies for human pharmaceuticals – Step 5. ICH Topic S8. CHMP/167235/2004. EMA; 2006.

^v Guideline on the investigation of medicinal products in the term and preterm neonate – First version. EMA/536810/2008. EMA; 2010.

^w Nonclinical safety evaluation of pediatric drug products. 2003D-0001. FDA, CDER; 2006.

^x Pediatric drug development: regulatory considerations – complying with the pediatric research equity act and qualifying for pediatric exclusivity under the best pharmaceuticals for children act. FDA-2005-D-0460. FDA; 2023.

Для всех категорий ЛП, перечисленных в *таблице 1*, регуляторные органы рекомендуют анализ рисков на основе WoE, гибкость дизайна исследований и проведение ранних консультаций. Для орфанных ГТЛП, сочетающих признаки всех трех групп препаратов, именно WoE становится основополагающим принципом доклинической разработки, что обусловлено механизмом действия, структурой и биологическими свойствами таких препаратов. В *таблице 2* приведены основные виды ДКИ для орфанных ГТЛП и биологических лекарственных препаратов (БЛП) заместительной терапии в соответствии с требованиями Решения Совета ЕЭК № 89. В отличие от стандартной терапии БЛП разработка ГТЛП дополнительно включает исследование

длительности экспрессии трансгена в целевых тканях, оценку экспрессии терапевтического продукта в нецелевых тканях как часть токсикологических исследований, а также оценку шеддинга и интеграции векторной ДНК в геном млекопитающих как часть специфических исследований безопасности.

Обязательное тестирование животных на наличие предсуществующих антител обеспечивает релевантность результатов оценки эффективности и безопасности ГТЛП. Успешность разработки ГТЛП обусловлена наличием надежной экспериментальной модели и разработкой методов оценки экспрессии трансгена в крови и тканях животных с использованием ортогонального подхода на уровне ДНК, мРНК и белка.

Таблица 2. Виды доклинических исследований для орфанных ГТЛП и биологических лекарственных препаратов (БЛП) заместительной терапии

Table 2. Types of preclinical studies for orphan GTMPs and enzyme replacement therapy (ERT) biologics

Вид исследования <i>Study type</i>	Подход для БЛП заместительной терапии <i>Approach for ERT biologics</i>	Подход для орфанных ГТЛП <i>Approach for orphan GTMPs</i>
Биологическая активность <i>in vitro</i> и механизм действия <i>Biological activity in vitro and mechanism of action</i>	Ферментативный анализ или клеточная модель, полученная от пациентов <i>Enzymatic assay or patient-derived cell model</i>	Модифицированная клеточная линия, чувствительная к вектору <i>Modified vector-sensitive cell line</i>
Фармакодинамика <i>Pharmacodynamics</i>	Оценка терапевтического эффекта на модельных нокаутных животных по суррогатным биохимическим точкам. Возможно проведение исследований с радиоактивной меткой для исследования интернализации фермента <i>Evaluation of the therapeutic effect in knockout animal models using surrogate biochemical endpoints. Radiolabeled studies to investigate enzyme internalization, if possible</i>	Оценка функционального ответа (прижизненные и гистологические тесты) и длительности эффекта на модельных нокаутных животных <i>Evaluation of the functional response by intravital and histological tests and the duration of the therapeutic effect in knockout animal models</i>
Фармакокинетика и биораспределение <i>Pharmacokinetics and biodistribution</i>	Оценка экспозиции препарата в крови нокаутных или здоровых животных <i>Evaluation of drug exposure in the blood of knockout or healthy animals</i>	Исследования биораспределения вектора и трансгена. Оценка длительности экспрессии трансгена. Исследование шеддинга вектора <i>Vector and transgene biodistribution studies. Assessment of transgene expression duration. Vector shedding studies</i>
Токсичность на грызунах и других видах млекопитающих, в том числе исследования на ювенильных животных <i>Toxicity in rodents and other mammalian species, including studies in juvenile animals</i>	Стандартная программа исследования хронической токсичности с оценкой токсикокинетики <i>Standard chronic toxicity study program with toxicokinetics assessment</i>	Индивидуальный дизайн исследования, включающий оценку экспрессии трансгена в нецелевых тканях и органах. Включение отдельных конечных точек безопасности в исследование фармакодинамики <i>Individualized study design, including assessment of transgene expression in non-target tissues and organs. Inclusion of individual safety endpoints in the pharmacodynamic study</i>
Токсичность на приматах <i>Primate toxicity</i>	Взрослые приматы <i>Adult primates</i>	Взрослые приматы с премедикацией <i>Adult primates with premedication</i>
Токсичность на ювенильных приматах <i>Toxicity in juvenile primates</i>	Ювенильные приматы <i>Juvenile primates</i>	Ювенильные приматы <i>Juvenile primates</i>
Репродуктивная токсичность <i>Reproductive toxicity</i>	Грызуны <i>Rodents</i>	Может быть обосновано отсутствие исследований <i>The lack of a study may be justified</i>

Продолжение таблицы 2
Table 2 (continued)

Вид исследования <i>Study type</i>	Подход для БЛП заместительной терапии <i>Approach for ERT biologics</i>	Подход для орфанных ГТЛП <i>Approach for orphan GTMPs</i>
Исследования интеграции в геном <i>Genome integration studies</i>	Не требуется <i>Not required</i>	Оценка интеграции векторной ДНК в геном млекопитающих <i>Evaluation of vector DNA integration into the mammalian genome</i>
Иммуногенность <i>Immunogenicity</i>	В рамках исследования токсичности <i>As part of a toxicity study</i>	Обязательный скрининг животных на наличие предсуществующих антител к вектору <i>Mandatory screening of animals for the presence of pre-existing antibodies to the vector</i>
Иммунотоксичность <i>Immunotoxicity</i>	Не требуется <i>Not required</i>	В рамках исследований общей токсичности <i>As part of general toxicity studies</i>
Исследование шеддинга вектора и оценка экотоксичности <i>Vector shedding and ecotoxicity study</i>	Не требуется <i>Not required</i>	В рамках исследований общей токсичности <i>As part of general toxicity studies</i>
Вертикальный перенос генов, инсерционный мутагенез, онкогенный потенциал, провоспалительный цитокиновый шторм и др. <i>Vertical germline transmission, insertional mutagenesis, oncogenic potential, pro-inflammatory cytokine storm, etc.</i>	Не требуется <i>Not required</i>	В рамках исследований общей токсичности <i>As part of general toxicity studies</i>

Таблица составлена авторами / The table was prepared by the authors

Примечание. ГТЛП – генотерапевтический лекарственный препарат.

Note. GTMP, gene therapy medicinal product.

Модели животных для доклинической разработки ГТЛП

Особенностью разработки орфанных ГТЛП является отсутствие четких патофизиологических маркеров заболевания и сложность выбора терапевтической мишени. Мутации генов при орфанных заболеваниях, как правило, характеризуются широким спектром точечных мутаций, вариабельностью клинических симптомов и их тяжестью [10–13]. Разработка экспериментальной модели, адекватно отражающей патофизиологическую картину заболевания у человека, как правило, требует получения нокаутных линий животных и их валидации по комплексу клинических симптомов заболевания для экстраполяции полученных результатов оценки эффективности на человека. Получение таких линий не всегда возможно [14]. В некоторых случаях модели не пригодны для оценки эффективности, но помогают выяснению этиологии и патофизиологии заболеваний. Прогностическая способность *in vivo* моделей может быть низкой из-за видовых различий в чувствительности к вектору и проявлений симптомов заболевания при мутациях, а также различий в скорости метаболизма у животных и человека [15, 16].

В европейских регуляторных документах для характеристики орфанных ЛП используется термин «медицинская правдоподобность» [17, 18]. Медицинская правдоподобность (обоснованность) представляет собой демонстрацию разработчиком «намерения лечить», подтверждающую целесообразность разработки продукта и его предполагаемую клиническую пользу. Для этого необходимо представить данные, полученные на пациентах, или доклинические результаты на модели заболевания, демонстрирующие фармакодинамическую активность ЛП, имеющую отношение к заболеванию [19]. Комитет по орфанным препаратам EMA (Committee for orphan medicinal products) публикует обзоры моделей *in vivo* с наилучшей прогностической ценностью. Основным фактором успешной разработки являются релевантность модели и дизайна исследования [14, 18, 20].

Для описания прогностической ценности экспериментальной модели заболевания применим подход, представленный на рисунке 1. Блок-схема отражает процесс принятия решения о медицинской правдоподобности данных, полученных с использованием модели. Первый шаг анализа – валидация экспериментальной модели, учитывающей генетические особенности

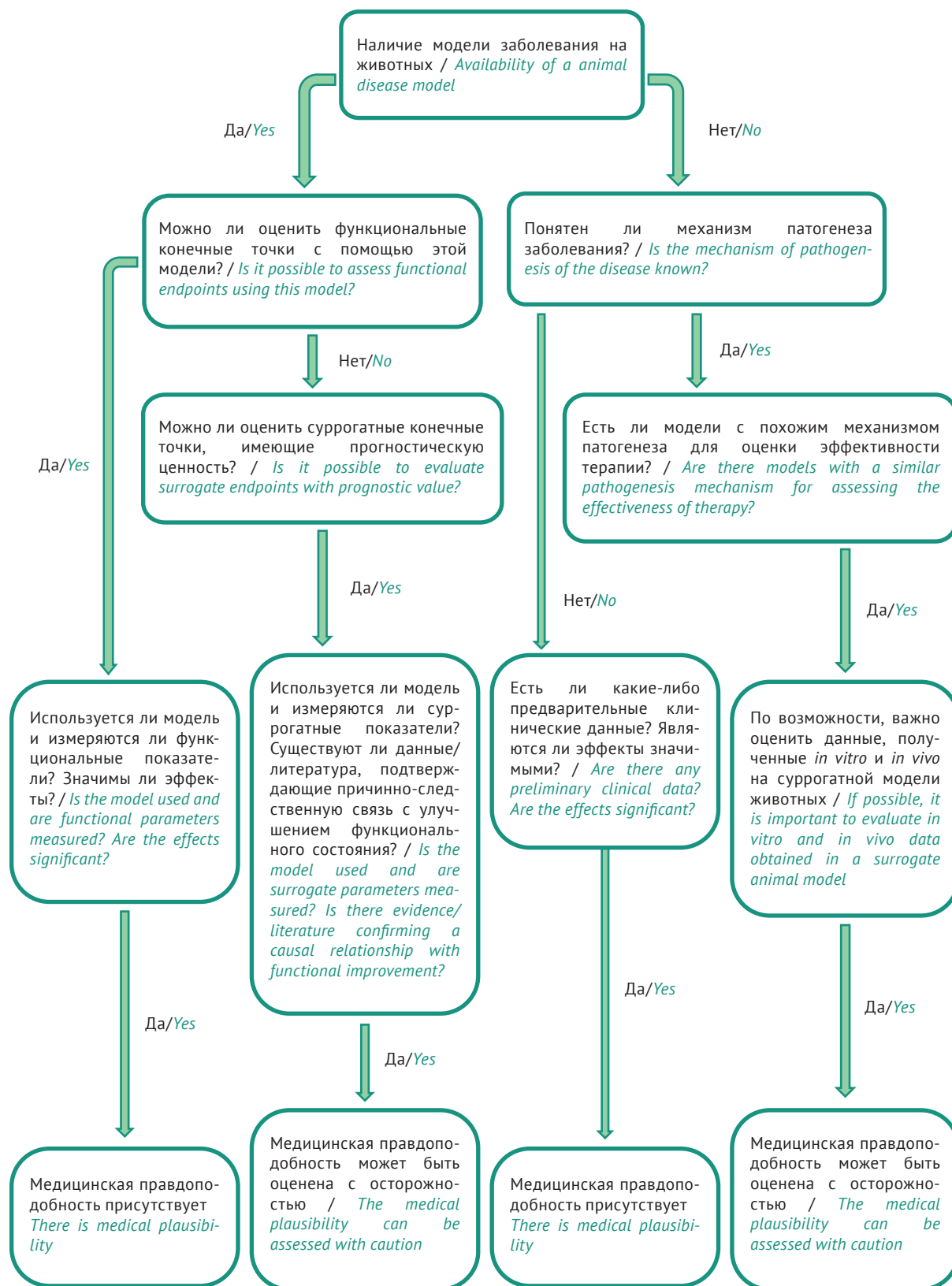


Рисунок подготовлен авторами / The figure was prepared by the authors

Рис. 1. Алгоритм оценки медицинской правдоподобности данных, полученных с использованием доклинической модели животных.

Fig. 1. Algorithm for assessing the medical plausibility of data obtained using a preclinical animal model.

заболевания и его клинические проявления. Затем рассматривается возможность оценки функционального ответа на терапию или использование суррогатных маркеров. Недостатки прогностической модели и даже неопределенность механизма действия ЛП могут быть частично компенсированы результатами *in vitro* или пилотными клиническими данными.

Примеры моделей для доклинической разработки

Примером успешной доклинической разработки ГТЛП с использованием надежной экспериментальной прогностической модели является разработка зарегистрированного для лечения мышечной миодистрофии Дюшенна (МДД) препарата Элевидис. Фармакологические исследования Элевидиса проводились на двух моделях грызунов: на мышах линии *mdx* и крысах линии *Dmd^{mdx}* [21–23]. Эти модели хорошо охарактеризованы по количественно измеряемым функциональным параметрам, соответствующим клиническому прогрессированию заболевания.

Мышечная дистрофия Дюшенна – X-сцепленное рецессивное нервно-мышечное заболевание, вызванное мутациями в гене дистрофина¹². К основным проявлениям МДД относятся мышечная слабость и задержка моторного развития в раннем возрасте; ко второму десятилетию жизни большинство пациентов прикованы к инвалидному креслу [24]. На поздних стадиях наблюдаются сердечные и респираторные осложнения, приводящие к ранней смерти [25]. Молекулярно-генетическая причина МДД – мутация гена, кодирующего белок дистрофин, участвующего в связывании актинового цитоскелета мышечной клетки с внеклеточным матриксом через дистрофин-гликопротеиновый комплекс [26].

МДД хорошо изучена на мышинных моделях [27]. Наиболее распространенная модель на мышах – линия *mdx*, у которой присутствует преждевременный стоп-кодон в экзоне 23, что приводит к потере полноразмерного дистрофина [28]. У этих мышей фенотип мышечной патологии мягче по сравнению с тяжелой мышечной дисфункцией у человека [29]. Фенотип характеризуется некрозом мышечных волокон и воспалительной инфильтрацией с 3-й недели жизни. После 4-недельного периода некроза и повышения уровня креатинкиназы

патологический процесс замедляется из-за компенсаторной экспрессии утrophина у мышей, что отличается от человека [30]. Мыши линии *mdx* имеют сокращенную продолжительность жизни и прогрессирующую дистрофическую мышечную патологию.

В качестве суррогатных точек используют биохимические маркеры (креатинин, АЛТ, АСТ). Для модели *mdx* разработаны протоколы методики оценки основных фармакодинамических параметров¹³. Основными конечными точками оценки эффективности при ДКИ Элевидиса являлись положительная динамика спонтанной активности животных, повышение уровня миокреатинкиназы в скелетных мышцах и сердце, нормализация функции сердца (в сравнении с нелеченым контролем)¹⁴. Используемые модели позволили подтвердить концепцию об эффективности ЛП, выбрать терапевтическую дозу для клинической разработки и полностью соответствовали подходу медицинской правдоподобности.

Спинальная мышечная атрофия (СМА) – ауто-сомно-рецессивное заболевание, приводящее к потере двигательных нейронов вследствие снижения уровня белка SMN (survival motor neuron) из-за мутаций в гене *SMN1*. Белок SMN кодируется генами *SMN1* и *SMN2*. Развитие 5q-ассоциированной СМА обусловлено мутациями в гене *SMN1*. Ген *SMN2* – высокоомологичная копия *SMN1*, присутствующая у всех пациентов, но не способная предотвратить заболевание. Критической точкой является замена цитозина на тимин в экзоне 7 гена *SMN2*, создающая сайт связывания для репрессора сплайсинга; вследствие этого основной транскрипт *SMN2* не содержит экзона 7 и функционально неполноценен¹⁵ [23]. Тяжесть симптомов заболевания ассоциирована с числом копий *SMN2*¹⁶.

Для оценки доклинической эффективности ГТЛП Золгенсма для лечения СМА использована модель мышей линии *SMNΔ7* (генотип *SMN2^{7/+}; SMNΔ7^{+/+}; Smn^{-/-}*), соответствующая наиболее тяжелой форме СМА (отсутствие транскрипта гена *SMN1* и неполноценный транскрипт гена *SMN2*). Основной конечной точкой оценки эффективности препарата являлось снижение летальности по сравнению с контролем. Модель подтвердила концепцию эффективности и позволила перейти к клинической разработке, показав

¹² Клинические рекомендации «Прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна. Прогрессирующая мышечная дистрофия Беккера». Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2023.

¹³ <https://www.treat-nmd.org/resources-and-support/sop-library/mdx-mouse-dmd/>

¹⁴ Elevidys. Pharmacology/Toxicology Review. FDA; 2023.

¹⁵ <https://compbio.berkeley.edu/people/ed/rust/Dystrophin.html>

¹⁶ Клинические рекомендации. «5q-ассоциированная спинальная мышечная атрофия». Миздрав России; 2024.

воздействие на наиболее тяжелое звено патогенеза в соответствии с подходом медицинской правдоподобности.

Изучение эффективности

Для орфанных заболеваний с неизвестным механизмом развития часто отсутствуют модели животных для оценки эффективности потенциальных ЛП, поэтому в ДКИ используют *in vitro* модели (иммортиализованные клеточные линии, эксплантаты тканей, клеточные культуры из образцов пациентов) и *ex vivo* модели (например, фибробласты пациентов). При наличии релевантной модели животных крайне важен гибкий подход при оценке ее прогностической способности или медицинской правдоподобности. В качестве конечных точек оценки эффективности следует использовать параметры, отражающие динамику патологического процесса у человека и валидированные для модели с возможностью количественной оценки терапевтического эффекта. В примерах ДКИ зарегистрированных ГТЛП в качестве конечных точек оценки фармакодинамики использовали как основные функциональные, так и дополнительные суррогатные параметры: повышение двигательной активности и мышечной силы, биохимические маркеры крови (мыши *mdx*); снижение летальности (мыши SMNΔ7).

Неотъемлемой частью фармакодинамических исследований ГТЛП является оценка продолжительности терапевтического эффекта и длительности экспрессии белка-трансгена в тканях-мишенях. Для обоих препаратов ключевой конечной точкой было подтверждение синтеза целевого белка в тканях-мишенях: в скелетных мышцах (Элевидис) или тканях головного и спинного мозга (Золгенсма); максимальная длительность исследований в обоих случаях составляла 6 мес.

Возраст модельных животных является значимым фактором для проявления основных клинических симптомов и экстраполяции полученных данных на человека. Введение препарата Элевидис более возрастным (3–5-месячным) мышам *mdx* не привело к каким-либо статистически значимым улучшениям в тесте «открытое поле» или дистрофической патологии мышц, несмотря на подтвержденную экспрессию микродистрофина в скелетных мышцах и сердце¹⁷. Эти результаты соответствуют клинической картине необратимых изменений

при МДД и подтверждают важность раннего начала терапии орфанных генетических заболеваний до развития необратимых изменений. Фармакологические исследования на мышах линии SMNΔ7 проводили при однократном внутривенном введении препарата новорожденным мышам (1–2 дни жизни), что обосновано особенностями модели и высокой летальностью без проведения терапии, что также соответствует клинической картине СМА. Оценку возрастной динамики клинических проявлений заболевания необходимо проводить на этапе валидации модели, включая анализ корреляции между возрастом дебюта заболевания у ребенка и возрастом животного на модели с учетом видовых особенностей.

Исследования биораспределения при оценке эффективности проведены для обоих препаратов на модельных животных. Экспрессию целевого белка в тканях-мишенях оценивали методом ПЦР (количество ДНК вектора и мРНК трансгена), а для препарата Элевидис также методом Вестерн-блот для оценки полноразмерного микродистрофина. Уровень белка SMN человека в мышечных тканях после введения Золгенсма в рамках ДКИ не определялся¹⁸.

Изучение безопасности

Оценка безопасности ГТЛП помимо исследований общей токсичности включает ряд специальных исследований. При разработке препаратов Элевидис и Золгенсма проведены долгосрочные исследования токсичности на здоровых грызунах (родительской линии дикого типа, соответствующей патологической модели); длительность исследования соответствовала максимальной длительности оценки экспрессии трансгена в исследованиях фармакодинамики. Особенностью оценки безопасности ГТЛП является оценка динамики экспрессии трансгена в нецелевых тканях и органах. Обнаружение ДНК вектора и уровень экспрессии трансгенного белка в нецелевых тканях (печень, репродуктивная система, почки и др.), а также оценка длительности персистенции вектора в крови дают важную информацию для оценки безопасности препарата и рисков как для пациента, так и экологического риска (экоотоксичность) [31]. В рамках исследования экотоксичности оценивают длительность периода выявления вектора в биологических жидкостях животных после введения препарата.

¹⁷ Клинические рекомендации. «5q-ассоциированная спинальная мышечная атрофия». Миздрав России; 2024.

¹⁸ Summary basis for regulatory action – ZOLGENSMA (BLA 125694). FDA; 2019.

Assessment report. Zolgensma. INN: onasemnogene abeparvovec, Procedure No. EMEA/H/C/004750/0000. EMA; 2020.

При оценке безопасности препарата Элевидис исследований на приматах не проводились, что было обусловлено видоспецифичностью серотипа вектора¹⁹. Однако в дополнительных исследованиях на приматах была проведена оценка возможности многократного введения препарата на фоне иммуносупрессивной терапии и влияние иммуносупрессии на биораспределение препарата на 12 и 24 нед. после внутривенного введения. В оценке безопасности препарата Золгенсма также отсутствовали исследования на приматах, за исключением двух краткосрочных не-GLP исследований биораспределения меченого препарата при интратекальном и внутривенном введении. Результаты подтвердили наличие трансгена в мотонейронах спинного мозга животных при внутривенном введении. Исследования на приматах выявили новый потенциальный риск – инфильтрацию мононуклеарных клеток в спинальных ганглиях, сопровождающуюся воспалением и повреждением (дегенерацией) нейронов при интратекальном введении препарата²⁰. Информация о необходимости мониторинга сенсомоторных нейронов у пациентов, получающих препарат, внесена в медицинские документы.

Для препарата Элевидис явлений токсичности в изучаемом диапазоне доз практически не выявлено. Исключение составляли случаи гидроцефалии, которая считается фоновым явлением для мышей линии *mdx*, выявлявшаяся также в контрольных группах животных без лечения. Для препарата Золгенсма во всех дозовых группах отмечены признаки кардио- и гепатотоксичности, а также летальные дозозависимые тромбозы. В связи с этим уровень NOAEL (no observed adverse effect level) был определен условно как доза, не приводящая к летальному тромбозу.

Исследования репродуктивной и эмбриональной токсичности, а также генотоксичности не проводились ни для одного из двух препаратов. Разработчики сослались на литературные данные о низкой частоте случайной интеграции в геном и отсутствии канцерогенного потенциала для рекомбинантных векторов AAV²¹. Регуляторные органы сочли это обоснование приемлемым.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ регуляторных документов и двух примеров разработки педиатрических

орфанных ГТЛП (Элевидис, Золгенсма) позволяет выявить ряд закономерностей и нерешенных вопросов.

Для стимулирования разработки новых препаратов для терапии тяжелых наследственных заболеваний регуляторными органами разных стран внедрены специальные процедуры, обеспечивающие раннюю регистрацию орфанных препаратов. Важным аспектом разработки ГТЛП является создание релевантной экспериментальной модели патологии, которая в соответствии с подходом медицинской правдоподобности должна иметь функциональные проявления заболевания, схожие с таковыми у человека. Знание биомаркеров прогрессирования заболевания позволит адекватно оценить эффективность новой терапии на доклиническом этапе и прогнозировать клинический ответ.

Подход, применяемый в разработке орфанных ЛП, включает оценку прогностической ценности экспериментальной модели и интеграцию в анализ WoE всех совокупных данных об эффективности (результаты *in vitro*, клинические данные, открытые данные о препаратах со сходным механизмом действия или способом получения). Это позволяет получить ясную картину клинической целесообразности разработки – ее медицинской правдоподобности в терминологии европейских регуляторных органов [3, 4, 7, 9]. История разработки двух наиболее изученных препаратов для лечения МДД и СМА показывает, что понимание молекулярно-генетических особенностей заболевания и связи генетических изменений с клиническими проявлениями и их тяжестью необходимо для разработки эффективных методов терапии.

Описанный в статье подход к разработке ГТЛП (индивидуальный дизайн, научные консультации) соответствует мировой практике [1–9, 32]. Изложенные положения могут быть использованы разработчиками при планировании программ ДКИ, а также экспертами регуляторных органов для гармонизации подходов к оценке эффективности и безопасности ГТЛП. Дальнейшие исследования должны быть направлены на анализ опыта постмаркетингового наблюдения за зарегистрированными препаратами для уточнения долгосрочных рисков и оптимизации требований к новым продуктам генной терапии.

Описанные примеры моделей заболеваний на животных показали, что даже

¹⁹ Summary basis for regulatory action – Elevidys (BLA STN 125781/0). FDA; 2023.

Assessment report. Elevidys. INN: delandistrogene moxeparvovec, Procedure No. EMEA/H/C/005293/0000. EMA; 2025.

²⁰ Summary basis for regulatory action – ZOLGENSMA (BLA 125694). FDA; 2019.

²¹ Там же.

«несовершенные» модели (*mdx*) могут быть полезны при разработке орфанных ЛП для педиатрической популяции, что не согласуется с критикой в литературе [20]. Ценность моделей СМА и МДД заключается в отражении ключевого звена патогенеза заболевания.

Феномен кардиотоксичности, наблюдавшейся в ДКИ только у Золгенсма, далее подтвердился в клинике для обоих препаратов. По данным ряда исследователей, сверхэкспрессия трансгена в организме животного может приводить к токсическим проявлениям, включая кардиотоксичность или нарушение экспрессии полноразмерного белка [31, 33]. Несмотря на неоднозначную транскрибируемость этих нежелательных явлений на человека и возможность снижения рисков на фоне иммуносупрессивной терапии, случаи нежелательного воздействия на сердце наблюдались при клиническом применении обоих препаратов. Последующие исследования выявили связь между видом трансгена и порогом чувствительности грызунов к кардиопатологии [34].

При разработке педиатрических орфанных ГТЛП важно учитывать неопределенности и риски, связанные с прогнозом безопасности: горизонтальное и вертикальное распространение генетического материала, иммуногенность, нецелевой мутагенез, долгосрочные побочные эффекты (выявляемые через 6 и более мес. после введения препарата), интеграция вектора в геном, экологические риски (обусловленные шеддингом вектора). Многие из этих эффектов изучаются постфактум. В то же время высокая эффективность на модельных животных и отсутствие альтернативной терапии жизнеугрожающих заболеваний служат весомым основанием для перехода препарата в клиническую фазу разработки.

Настоящий обзор имеет ограничения. Во-первых, анализ ограничен двумя наиболее изученными препаратами, что не позволяет экстраполировать выводы на все классы ГТЛП (например, технологию CRISPR/Cas). Во-вторых, ориентация на педиатрических пациентов ограничивает возможность обобщения полученных выводов для других возрастных групп.

Накопление опыта доклинической и клинической разработки ГТЛП требует постоянного пересмотра регуляторных подходов и использования передовых технологий [35]. Перспективными направлениями разработки ГТЛП являются следующие:

– разработка более совершенных моделей на животных – ксенотрансплантаты от паци-

ентов (patient-derived xenografts, PDX), гуманизированные мыши (humanized mice);

- использование 3D-моделей и органоидов, полученных от человека, для оценки экспрессии трансгенов, клеточного тропизма и токсичности вирусных капсидов до применения *in vivo*;
- совершенствование средств целевой доставки трансгена (модифицированные капсиды AAV, липидные наночастицы) для минимизации нецелевой токсичности и обеспечения тканеспецифичности (например, проникновение через гематоэнцефалический барьер);
- усовершенствование методов редактирования генома (прайм-редактирование и редактирование оснований), что позволяет вносить точные изменения нуклеотидов со значительно сниженным риском хромосомных транслокаций;
- совершенствование методов оценки долгосрочных рисков интеграции;
- гармонизация требований к ДКИ на международном уровне для ускорения вывода препаратов на рынок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ показал, что доклиническая разработка педиатрических орфанных ГТЛП базируется на принципе весомости доказательств (WoE) и индивидуальном дизайне исследований, что обусловлено отсутствием унифицированных регуляторных требований.

Систематизированы особенности доклинической разработки педиатрических орфанных ГТЛП, ключевыми из которых являются гибкость дизайна, приоритет функциональных конечных точек и тщательная валидация моделей животных. Важными элементами программ ДКИ являются замена исследований фармакокинетики оценкой биораспределения, анализ экспрессии трансгена в целевых и нецелевых тканях, изучение шеддинга и интеграции вектора.

На примере препаратов Элевидис и Золгенсма показано, что критическим фактором успеха является наличие релевантной модели на животных, валидированной по клинически значимым конечным точкам (функциональное улучшение, снижение летальности), даже при фенотипических ограничениях модели.

Ускорение разработки и регистрации ГТЛП возможно благодаря раннему взаимодействию с регуляторными органами для подтверждения выбранной стратегии и достаточности объема полученных данных, фокуса на валидации прогностических моделей и применения гибкого подхода к объему исследований на основе анализа рисков.

Сформулированные положения могут быть использованы разработчиками при планировании программ ДКИ, а также экспертами регуляторных органов для гармонизации подходов к оценке эффективности и безопасности ГТЛП и ускорения выхода в клиническую практику

жизненно важных препаратов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на анализ опыта постмаркетингового наблюдения для уточнения долгосрочных рисков и оптимизации требований к новым продуктам генной терапии.

Литература/References

1. Miller KL, Fermaglich LJ, Maynard J. Using four decades of FDA orphan drug designations to describe trends in rare disease drug development: substantial growth seen in development of drugs for rare oncologic, neurologic, and pediatric-onset diseases. *Orphanet J Rare Dis*. 2021;16(1):265. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01901-6>
2. Miller KL, Lanthier M. Orphan drug label expansions: analysis of subsequent rare and common indication approvals. *Health Aff (Millwood)*. 2024;43(1):18–26. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2023.00219>
3. Енгальчева ГН, Сюбаев РД. Разработка педиатрических препаратов: ключевые факторы риска и программа доклинических исследований. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023;13(1):14–26. Engalycheva GN, Syubaev RD. Development of paediatric medicines: Key risk factors and non-clinical research programmes. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(1):14–26 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-500>
4. Астапова ОВ, Берчатова АА. Генотерапевтические препараты: аспекты доклинического изучения безопасности. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(1):73–96. 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>
5. Рачинская ОА, Мельникова ЕВ, Меркулов ВА. Особенности дизайна доклинических исследований препаратов генной терапии *in vivo*. Часть 1: фармакологические исследования. *Инновационная медицина Кубани*. 2025;10(4):113–20. Rachinskaya OA, Melnikova EV, Merkulov VA. Design features of nonclinical studies of *in vivo* gene therapy medicinal products. Part 1: Pharmacological studies. *Innovative Medicine of Kuban*. 2025;10(4):113–20 (In Russ.). <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2025-10-4-113-120>
6. Рачинская ОА, Мельникова ЕВ, Меркулов ВА. Особенности дизайна доклинических исследований препаратов генной терапии *in vivo*. Часть 2: фармакокинетические и токсикологические исследования. *Инновационная медицина Кубани*. 2026;11(1):148–56. 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):148–56 (In Russ.). <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2026-11-1-148-156>
7. Warreth S, Harris E. The regulatory landscape for ATMPs in the EU and US: A comparison. *Technol Univ Dublin*. 2020;15:5. <https://doi.org/10.21427/PK3V-G445>
8. Мельникова ЕВ, Меркулова ОВ, Меркулов ВА. Мировая практика научного консультирования по вопросам разработки и регистрации инновационных препаратов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(3):167–77. Melnikova EV, Merkulova OV, Merkulov VA. World practice of providing scientific advice on the development and authorisation of innovative medicines. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(3):167–77 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-167-177>
9. Енгальчева ГН, Сюбаев РД. WoE-анализ и ключевые факторы риска при доклинической разработке лекарственных препаратов: обзор. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2024;12(4):463–76. Engalycheva GN, Syubaev RD. WoE analysis and key risk factors in preclinical development of medicinal products: A review. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2024;12(4):463–76 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2024-12-4-463-476>
10. Guy J, Hendrich B, Holmes M, et al. A mouse Mecp2-null mutation causes neurological symptoms that mimic Rett syndrome. *Nat Genet*. 2001;27(3):322–6. <https://doi.org/10.1038/85899>
11. Gan S, Xu L, Liao H, Wu L. Spectrum of DMD gene mutations in 507 patients: A retrospective genotype-phenotype study using next-generation sequencing. *Arch Pediatr*. 2025;32(8):547–51. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2025.07.002>
12. Ehrhart F, Jacobsen A, Rigau M, et al. A catalogue of 863 Rett-syndrome-causing MECP2 mutations and lessons learned from data integration. *Sci Data*. 2021;8(1):10. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-00794-7>
13. Aartsma-Rus A, Van Deutekom JC, Fokkema IF, et al. Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: An overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule. *Muscle Nerve*. 2006;34(2):135–44. <https://doi.org/10.1002/mus.20586>
14. Sheean ME, Stoyanova-Beninska V, Capovilla G, et al. Nonclinical data supporting orphan medicinal product designations: Lessons from rare neurological conditions. *Drug Discov Today*. 2018;23(1):26–48. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.09.015>
15. Pires de Mello CP, Rumsey J, Slaughter V, Hickman JJ. A human-on-a-chip approach to tackling rare diseases. *Drug Discovery Today*. 2019;24(11):2139–51. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.08.001>
16. Haugabook SJ, Ferrer M, Ottinger EA. *In vitro* and *in vivo* translational models for rare liver diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(5):1003–18. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.07.029>
17. Hofer MP, Hedman H, Mavris M, et al. Marketing authorisation of orphan medicines in Europe from 2000 to 2013. *Drug Discov Today*. 2018;23(2):424–33. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.10.012>
18. Tsigkos S, Hofer MP, Sheean ME, et al. Establishing rarity in the context of orphan medicinal product designation in the European Union. *Drug Discov Today*. 2018;23(3):681–6. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.06.003>
19. Duarte DM, da Silva Lima MB, Sepodes B. The translational value of animal models in orphan medicines designations for rare paediatric neurological diseases. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020;118:104810. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104810>
20. Sheean ME, Malikova E, Duarte D, et al. Nonclinical data supporting orphan medicinal product designations in

- the area of rare infectious diseases. *Drug Discov Today*. 2020;25(2):274–91.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.10.015>
21. Potter RA, Griffin DA, Heller KN, et al. Functional and histological improvements comparing 4 micro-dystrophin constructs in the *mdx* mouse model of DMD. In: *American Society of Gene and Cell Therapy (ASGCT) 22nd Annual Meeting*. Washington, DC; 2019.
 22. Potter RA, Griffin DA, Heller KN, et al. Dose-escalation study of systemically delivered rAAVrh74.MHCK7.micro-dystrophin in the *mdx* mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Gene Ther*. 2019;32(7–8):375–89.
<https://doi.org/10.1089/hum.2019.255>
 23. Larcher T, Lafoux A, Tesson L, et al. Characterization of dystrophin deficient rats: A new model for Duchenne muscular dystrophy. *PLoS One*. 2014;9(10):e110371.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110371>
 24. Elangkovan N, Dickson G. Gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. *J Neuromuscul Dis*. 2021;8(s2):S303–16.
<https://doi.org/10.3233/jnd-210678>
 25. Crisafulli S, Sultana J, Fontana A, et al. Global epidemiology of Duchenne muscular dystrophy: an updated systematic review and meta-analysis. *Orphanet J Rare Dis*. 2020;15(1):141.
<https://doi.org/10.1186/s13023-020-01430-8>
 26. Flanigan KM. Duchenne and Becker muscular dystrophies. *Neurol Clin*. 2014;32(3):671–88.
<https://doi.org/10.1016/j.ncl.2014.05.002>
 27. Ng R, Banks GB, Hall JK, et al. Animal models of muscular dystrophy. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012;105:83–111.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394596-9.00004-4>
 28. Im WB, Phelps SF, Copen EH, et al. Differential expression of dystrophin isoforms in strains of *mdx* mice with different mutations. *Hum Mol Genet*. 1996;5(8):1149–53.
<https://doi.org/10.1093/hmg/5.8.1149>
 29. Chamberlain JS, Metzger J, Reyes M, et al. Dystrophin-deficient *mdx* mice display a reduced life span and are susceptible to spontaneous rhabdomyosarcoma. *FASEB J*. 2007;21(9):2195–204.
<https://doi.org/10.1096/fj.06-7353com>
 30. Matsumura K, Ervasti J, Ohlendieck K, et al. Association of dystrophin-related protein with dystrophin-associated proteins in *mdx* mouse muscle. *Nature*. 1992;360:588–91.
<https://doi.org/10.1038/360588a0>
 31. Biquand A, Gicquel E, Poupiot J, et al. Transgene-induced cardiotoxicity in high-dose AAV gene transfer. *Mol Ther*. 2026;34(4):2012–27.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.12.042>
 32. Aksoy H. Orphan drugs: Review article. *Deneysel Ve Klinik Tip Dergisi*. 2023;40(4):792–4.
 33. Yue Y, Wasala NB, Bostick B, Duan D. 100-fold but not 50-fold dystrophin overexpression aggravates electrocardiographic defects in the *mdx* model of Duchenne muscular dystrophy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;3:16045.
<https://doi.org/10.1038/mtm.2016.45>
 34. Abou-El-Enein M, Elsanhoury A, Reinke P. Overcoming challenges facing advanced therapies in the EU Market. *Cell Stem Cell*. 2016;19(3):293–7.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.08.012>
 35. Liu F, Li R, Zhu Z, et al. Current developments of gene therapy in human diseases. *MedComm*. 2024;5:e645.
<https://doi.org/10.1002/mco2.645>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.М. Азарова** и **Н.А. Гаврилова** – разработка концепции обзора, написание текста рукописи, формулировка выводов, утверждение окончательной версии статьи для публикации; **М.В. Тихомирова** – написание текста рукописи, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Использование генеративного искусственного интеллекта. Авторы заявляют, что не использовали генеративный ИИ при подготовке рукописи.

Author contributions. All authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.M. Azarova** and **N.A. Gavrilova** conceptualized the review, drafted the manuscript, formulated the conclusions, and approved the final version of the manuscript for publication. **M.V. Tikhomirova** drafted the manuscript and approved the final version of the manuscript for publication.

Use of generative artificial intelligence. The authors declare that no generative AI was used during the preparation of this manuscript.

Об авторах / Authors

Азарова Анна Михайловна, канд. биол. наук / **Anna M. Azarova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2901-732X>

Гаврилова Наталья Андреевна, канд. биол. наук / **Natalia A. Gavrilova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4624-9189>

Тихомирова Мария Васильевна / **Mariia V. Tikhomirova**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0762-6325>

Поступила 06.03.2026

После доработки 03.06.2026

Принята к публикации 19.06.2026

Received March 6, 2026

Revised June 3, 2026

Accepted June 19, 2026