

Фармакокинетические свойства препаратов белковой природы

А.А. Солдатов, Ж.И. Авдеева, Н.А. Алпатова, Н.В. Медуницын, С.Л. Лысикова, В.А. Меркулов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Pharmacokinetic properties of the preparations of protein origin

A.A. Soldatov, Zh.I. Avdeeva, N.A. Alpatova, N.V. Medunitsyn, S.L. Lysikova, V.A. Merkulov

Federal State Budgetary Institution
«Scientific Center on Expertise of Medical Application Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Биологические препараты существенно отличаются от низкомолекулярных химических препаратов по молекулярной массе, многомерной структуре действующего вещества, наличием посттрансляционных модификаций, составу примесей и вспомогательных веществ, производственному процессу получения препарата и др. Данные особенности биологических препаратов оказывают влияние и на их фармакокинетические свойства. Изучение фармакокинетических свойств необходимо не только для обоснования эффективности биологического препарата, но и является ключевым исследованием для демонстрации подобия/сходства разрабатываемого биоподобного и референтного (оригинального) препаратов. Биологические препараты с высокой молекулярной массой при подкожном и внутримышечном введении из места инъекции вначале мигрируют в сосуды лимфатической системы, а затем попадают в кровь. На фармакокинетические свойства препаратов, имеющих в своем составе Fc фрагмент иммуноглобулина, оказывает влияние их способность взаимодействовать с Fcγ и FcRn рецепторами. Практически все биологические препараты обладают иммуногенностью, появление антител к препарату вызывает изменение не только фармакодинамических, но фармакокинетических свойств биологических препаратов. Оценка фармакокинетических свойств представляет собой сложный и трудоемкий процесс, например, изучение распределения препарата может потребовать в некоторых случаях использование радиоактивной метки.

Ключевые слова: фармакокинетика; всасывание; биодоступность; распределение; метаболизм; биологические препараты; моноклональные антитела.

Библиографическое описание: Солдатов АА, Авдеева ЖИ, Алпатова НА, Медуницын НВ, Лысикова СЛ, Меркулов ВА. Фармакокинетические свойства препаратов белковой природы. Биопрепараты 2015; (2): 24–35.

Biological preparations differ substantially from low molecular weight chemicals in molecular weight, multidimensional structure of an active substance, presence of post-translational modifications, composition of impurities and excipients, drug manufacturing process, etc. These specific features of biological preparations also influence their pharmacokinetic properties. The assessment of pharmacokinetic properties is essential not only for the confirmation of the efficacy of a biological preparation, but it is also key aspect of demonstrating the similarity/analogy of a biosimilar preparation under development and the reference (original) preparation. High molecular weight biological preparations when administered subcutaneously and intramuscularly initially migrate from the injection site into lymphatic vessels and then to blood. Pharmacokinetic properties of drugs with Fc region of immunoglobulin, are affected by their ability to interact with Fcγ and FcRn receptors. Almost all biological preparations possess immunogenicity, the appearance of antibodies to a drug causes changes not only in pharmacodynamic but also in pharmacokinetic properties of biological products. The assessment of pharmacokinetic properties is a complicated and time-consuming process, for example, the study of drug distribution may in some cases require the use of a radioactive label.

Key words: pharmacokinetics; absorption; bioavailability; distribution; metabolism; biological preparation; monoclonal antibodies.

Bibliographic description: Soldatov AA, Avdeeva ZhI, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Lysikova SL, Merkulov VA. Pharmacokinetic properties of the preparations of protein origin. Biopreparation (Biopharmaceuticals) 2015; (2): 24–34.

Создание генно-инженерных технологий, которые позволяют получать белковые молекулы с необходимыми свойствами, значительно расширило арсенал биологических лекарственных препаратов, применяемых для лечения тяжелых хронических заболеваний. В клинической практике уже широко используются биотехнологические препараты для лечения онкологических, аутоиммунных, воспалительных и наследственных заболеваний, действующим веществом которых являются аналоги эндогенных цитокинов, факторов системы гемостаза, гормонов (эритропоэтин, интерферон, факторы свертывания крови VII, VIII и IX, соматотропин,

инсулин, фолликулотропин и др.), препараты на основе моноклональных антител (мАт) (моноклональные антитела против фактора некроза опухоли, ИЛ-6, ИЛ-7, CD22, CD11 и др.), препараты на основе рекомбинантных аллергенов и др.

При разработке лекарственного средства исследователь должен ответить на следующие вопросы: Достигнет ли препарат органа мишени в организме, в концентрации необходимой для получения терапевтического эффекта? Произойдет ли взаимодействие с «рецептором-мишенью», с проявлением специфической активности препарата? Произойдет ли разви-



Рис. 1. Этапы развития ФК и ФД на введение препарата.

тие терапевтического ответа при взаимодействии препарата с "рецептор-мишень"? Ответы на эти вопросы могут быть получены только в процессе исследования фармакокинетических и фармакодинамических свойств препарата.

Закономерности фармакокинетики и фармакодинамики большинства химических низкомолекулярных препаратов хорошо изучены. Создание и изучение свойств биологических препаратов для лечения заболеваний является относительно молодым направлением в фармакологии. Для оценки токсикологических и фармакологических свойств данных препаратов используются те же самые методологические подходы и критерии, которые применяются для характеристики препаратов, полученных на основе химического синтеза [1].

Биологические препараты по молекулярной массе, структуре белковой молекулы, составу вспомогательных веществ и примесей, условиям хранения, механизму действия значительно отличаются от химических препаратов. Данные отличия оказывают существенное влияние на фармакокинетические и фармакодинамические свойства биологических препаратов.

В некоторых случаях при внесении изменений в производственный процесс получения биологического препарата или для регистрации биоподобного препарата требуется продемонстрировать сходство/подобие биологических препаратов, полученных в разных условиях. В подобных ситуациях в основе доказательства сходства/подобия двух препаратов лежит сравнительная оценка их фармакокинетических и фармакодинамических свойств.

Условно механизм терапевтического действия препарата можно разделить на два этапа. Первый этап, связанный с поступлением препарата в кровоток и его накоплением в месте локализации "органа-мишени", называется фармакокинетика (рис. 1). На следующем этапе (фармакодинамика) происходит взаимодействие препарата с "рецептор-мишенью", сопровождаемое ответной реакцией клетки/ткани на препарат.

Фармакокинетика (ФК) – раздел фармакологии, который изучает пути поступления препарата в организм, его абсорбцию (всасывание), распределение, метаболизм, выведение (клиренс), а для биологических препаратов еще и вопросы катаболизма. Фармакодинамика (ФД) – раздел, который изучает биохимические и физиологические эффекты в результате действия лекарственного препарата на организм, механизмы специфического действия препарата и связь между концентрацией препарата и достигнутым эффектом. Показатели фармакокинетики отвечают на вопрос – "что происходит с препаратом в организме", а фармакодинамики – "как препарат влияет на организм". Исследования ФК и ФД целесообразно проводить в совместных исследованиях, так как многие показатели ФК позволяют дополнить и объяснить фармакодинамические эффекты препарата.

Для обычных химических лекарственных средств и биологических препаратов с малой молекулярной массой взаимосвязь между концентрацией препарата и эффектом во времени имеет

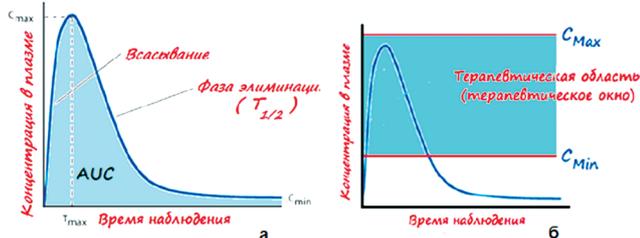


Рис. 2. Показатели фармакокинетики: а. максимальная концентрация препарата в плазме (C_{max}), время достижения максимальной концентрации препарата в плазме (T_{max}) и минимальная концентрация препарата в плазме (C_{min}); б. максимальная переносимая доза (C_{max}) и минимальная эффективная доза (C_{min}).

линейную зависимость и графически максимально приближена к кривым, представленным на рис. 2. ФК и ФД биологических препаратов с высокой молекулярной массой, в первую очередь тех, которые являются аналогами эндогенных молекул и препаратов моноклональных антител, имеет особенности, что очень часто проявляется их нелинейной зависимостью. Согласно данным, представленным в работе D. R. Mould and K.R.D. Sweeney (2007), из 22 препаратов моноклональных антител только 8 имеют линейную ФК, 9 – нелинейную, для 5 препаратов авторы не могли установить закономерность [2].

Фармакокинетические свойства биологических препаратов зависят от многих факторов и требуют тщательного изучения, что позволяет гарантировать безопасность и эффективность применения биологических препаратов. В данном обзоре представлен анализ основных факторов, которые влияют на фармакокинетические и фармакодинамические свойства биологических препаратов.

Абсорбция/всасывание биологических препаратов

Способность препарата достигать ткани (области), в которой расположен "рецептор-мишень", оценивается по показателям абсорбции/всасываемости. Учитывая, что определить концентрацию препарата непосредственно в области локализации рецептора-мишени очень сложно (необходимо использовать радиоактивную метку), для оценки абсорбции используются показатели количества препарата или его метаболитов в плазме. Скорость абсорбции/всасывания можно охарактеризовать по времени (T_{max}) в течение которого достигается максимальная концентрация препарата в плазме (C_{max}) (рис. 2, а) [1].

Количество лекарственного препарата, которое достигает места локализации рецептора-мишени, оценивается по показателю биодоступности. Наиболее простым способом определения биодоступности является определение количества действующего вещества, которое достигло системного кровотока. Более точно биодоступность можно охарактеризовать по показателям абсолютной или относительной биодоступности. При внутривенном введении препарата он в полном объеме попадает в кровоток и, соответственно, его биодоступность составляет 100%. При использовании других путей введения будут происходить "потери" препарата. Например, при внутримышечном (в/м) или подкожном (п/к) введении препарат достигает кровотока не в полном объеме, так как будут наблюдаться его "потери" за счет неспецифического протекания в тканях или связывания с рецепторами и др. Поэтому, чем меньше будет наблюдаться "потеря" препарата в процессе всасывания, тем больше его уровень биодоступности и концентрация в области расположения специфического "рецептора-мишени".

В организме лекарственное вещество распределяется между кровью, межклеточной жидкостью и клетками тканей. Для оценки распределения препарата используется показатель кажущегося объема распределения (или просто объем распределения), который определяется как отношение содержания препарата в организме к его концентрации в крови. Т.е. под объемом распределения понимается условный объем, в котором может быть распределен препарат, при условии, что его концентрация везде такая же, как и в плазме.

На основании подробной характеристики ФК свойств препаратов строится заключение, гарантирующее эффективность и безопасность применения лекарственного средства. Классическая кривая "концентрация-время" позволяет установить не только "минимальную концентрацию препарата" (C_{min}) (рис. 2, б), при которой он будет эффективен, но и "максимально переносимую концентрацию" (C_{max}), превышение которой может привести к развитию токсичного эффекта препарата. Определение максимальной переносимой и минимальной эффективной доз позволяет установить диапазон концентраций препарата, в котором

гарантируется эффективное и безопасное применение препарата ("терапевтическая область" или "терапевтическое окно").

Если препарат вводится не внутривенно, а с помощью других парентеральных методов, то его миграция из места введения в кровотоки зависит от двух групп факторов. Первая группа включает факторы, связанные со свойствами лекарственного препарата, такими как: физико-химические свойства молекулы действующего вещества (структура молекулы, наличие Fc-фрагмента, гетерогенность заряда и др.), дозы и способа введения препарата (путь введения, глубина инъекции и др.). Вторая группа факторов, влияющих на всасывание связана с особенностями организма (например, масса тела, пол, возраст, состояние мышц и подкожной клетчатки, сопутствующей терапии и др.) и особенности патологического процесса [3–10].

Поступление биологического препарата с молекулярной массой до 16 кДа при в/м или п/к введении в центральный кровотоки из места инъекции происходит посредством простой пассивной диффузии в кровеносные капилляры. Препараты, имеющие более высокую молекулярную массу, вначале мигрируют в сосуды лимфатической системы, а затем из них в кровеносное русло. Скорость достижения максимальной концентрации при подкожном введении пептидов составляет несколько часов, а препаратов моноклональных антител (мАТ), как правило, несколько дней [4–6].

Для молекул, которые в своем составе имеют Fc-фрагмент, возможен FcRn-опосредованный механизм транспорта биопрепарата в кровеносное русло из места введения [1, 11]. Вклад каждого из этих механизмов в процесс поступления препарата в кровь установить сложно.

Несмотря на то, что на способность всасываться в кровеносное русло в первую очередь влияет молекулярная масса препарата, отсутствует прямо пропорциональная (линейная) зависимость между абсорбцией/всасываемостью (по показателю биодоступности) и молекулярной массой действующего вещества препарата (рис. 3). Наибольшая биодоступность (100%) определяется у рекомбинантного ИЛ-3, молекулярная масса которого составляет 13,2 кДа, в то время как у препарата с наименьшей молекулярной массой инсулина (м.м. 5,8 кДа) биодоступность составляет 84%, как и у пегелированного ИНФ α -2а с самой большой молекулярной массой (м.м. 60 кДа) – 80%.

Биодоступность биологических препаратов при п/к или в/м введении обычно ниже 100%, однако для некоторых препаратов (например, интерферона-гамма) при п/к введении достигает 200%, а при в/м введении – 300% [12–14].

Из микроциркуляторного русла препараты попадают в ткань, в том числе и в область локализации рецептора-мишени, с помощью эндоцитоза или пиноцитоза и с участием рецептор-опосредованных транспортеров. Следует отметить, что процесс миграции препарата из кровеносных сосудов в ткань обычно сопровождается деградацией молекулы действующего вещества. Высокий уровень препарата в сосудистом русле является помехой для оценки концентрации в ткани, поэтому изучение проникновения препарата в ткани рекомендуется проводить в экспериментальных условиях на моделях грызунов [15].

При внутривенном введении препаратов с высокой молекулярной массой (например, моноклональных антител) распре-

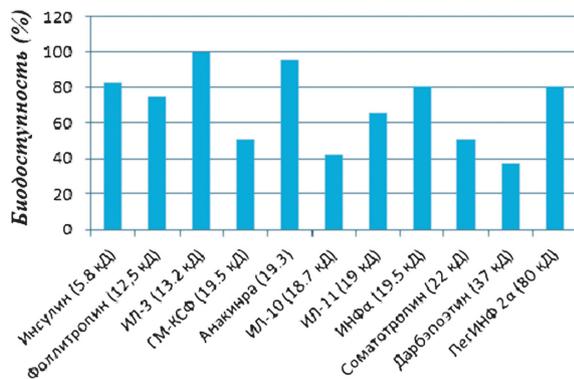


Рис. 3. Биодоступность биологических препаратов при подкожном введении человеку.

деление будет приближаться к объему плазмы, на основании чего можно предположить, что они будут слабо проникать в ткани [16]. Тем не менее, как показали исследования с радиоактивной меткой, моноклональные антитела после внутривенного введения активно мигрируют в ткани [15].

Объем распределения препарата в значительной степени зависит от его физико-химических свойств (например, заряд, липофильность), способности связываться с белками и от возможности его миграции с помощью механизмов активного переноса. Поскольку молекулы действующего вещества большинства препаратов, полученных с помощью технологии рекомбинантной ДНК, имеют большие размеры, их объем распределения обычно мал и ограничен объемом внеклеточного пространства. Это может быть связано с их более низкой подвижностью за счет ограниченной способности прохождения через биологические мембраны.

При попадании препарата в кровеносное русло он может связываться с белками плазмы, что, соответственно, может повлиять на его распределение в организме. Рецепторы на поверхности клеток и некоторые белки плазмы (α 2-макроглобулины, белки острой фазы и др.), нейтрализующие и перекрестно реагирующие антитела активно связываются с белковыми препаратами. Это было продемонстрировано на примерах инсулиноподобного фактора роста, гормона роста и др. Препараты на основе мАТ, кроме белков плазмы, могут связываться с Fc γ и FcRn рецепторами и антигенами (эпитопами), расположенными на мембране клеток, таких как клетки крови, клетки системы иммунитета и др., что может привести к отклонению от заранее предполагаемых значений распределения [17, 18]. Поэтому показатель концентрации биологических препаратов в ткани будет увеличиваться при связывании препарата с рецепторами, антителами, интра- и экстравакулярными белками.

Если в процессе исследования будут получены данные, свидетельствующие о низком распределении биопрепарата, то это еще не значит, что препарат слабо проникает в ткани. Необходимая концентрация может быть достигнута в одном органе-мишени за счет опосредованного рецептором поглощения (проникновения) препарата, об этом косвенно могут свидетельствовать высокие результаты терапевтической эффективности биологического препарата.

Для описания процесса всасывания/абсорбции биологических препаратов у человека используются результаты исследований ФК на животных. При этом необходимо учитывать, что фармакокинетические эффекты для многих биологических препаратов имеют видовые особенности. В частности, при п/к введении инсулина, который имеет небольшую молекулярную массу (5,8 кДа), овцам биодоступность была наименьшая (31,5%) (табл. 1), а при введении собакам – полная (100%), а человеку – на уровне 84%. В то же время у препарата с высокой молекулярной массой (дарбэпоэтин, м.м. 37 кДа) биодоступность у овец составляет 83–99%, а у человека только 36,9%.

При изучении ФК препаратов с молекулярной массой более 20 кДа, таких как рекомбинантный эпоэтин (м.м. 30,4 кДа), было установлено, что биодоступность у овец составила 87% и у крыс – 58,6%. На основании результатов исследований авторы предполагают, что у овец при подкожном введении преобладает миграция белков эпоэтина в кровь через лимфатическую систему и интенсивность его выше, в отличие от других типов миграции, которые наблюдаются у грызунов, кроликов и человека [3, 8, 19, 20].

Результаты данных исследований свидетельствуют о необходимости внимательного выбора релевантного вида животного при изучении ФК и ФД в эксперименте и учета возможных различий между экспериментальной моделью и человеком при экстраполяции результатов доклинического изучения ФК на человека.

Учитывая низкую всасываемость/абсорбцию при п/к и в/в введении биологических препаратов, было проведено ряд исследований с целью повышения степени абсорбции биопрепаратов. Воссі с соавт. (1986) для увеличения всасываемости рекомбинантного ИНФ- β при п/к введении в состав препарата включили альбумин и гиалуронидазу. По мнению авторов, альбумин увеличивает степень гидратации в месте подкожного введения препарата, при этом увеличение количества жидкости в месте введения способствует более активному продвижению препарата в лимфоток. Совместное введение интерферона и альбумина увеличивало всасываемость в 2 раза. Введение в состав препарата гиалурони-

Таблица 1. Биодоступность биологических препаратов при подкожном введении экспериментальным животным и человеку

Препараты	М.м. кДа	Объект изучения	Биодоступность (%)
Инсулин	5,8	крыса	81,5
		овца	31,5
		собака	100
		человек	84
Рекомбинантный ИЛ-3	13,5	обезьяна	40
Рекомбинантный ИЛ-2	15,5	человек	100
		свинья	42
Рекомбинантный гормон роста	22	человек	30-80
		овца	58,4
Рекомбинантный эпозитин	30,4	человек	50
		крыса	58,6
		овца	87
		обезьяна	27-100
Дарбэпоэтин	37	человек	36-100
		овца	83-99
Канакинумаб	145	человек	36,9
		обезьяна	60
Омализумаб	149	человек	63-67
		мышь	90
		обезьяна	64-100
Голимумаб	150	человек	62
		обезьяна	77
Устекинумаб	150	человек	53
		обезьяна	97
Этанерсепт	150	человек	24 - 95
		мышь	58
		обезьяна	73
		человек	76

дазы, которая повышает локальную сосудистую проницаемость, увеличивало всасываемость ИНФ-β в 8 раз [21].

Выведение биологических препаратов

Лекарственные вещества выделяются из организма либо в неизмененном виде, либо в виде продуктов, которые образовались в процессе метаболизма. Основными показателями, которые характеризуют процесс выведения лекарственного препарата, являются клиренс и период полувыведения препарата. Показатель клиренса характеризует полное выделение препарата из плазмы или крови за единицу времени, что происходит в результате биотрансформации, перераспределения и/или выведения препарата из организма. Период полувыведения препарата ($T_{1/2}$) отражает время, в течение которого концентрация препарата в организме снижается на 50% (рис. 2).

Процесс метаболизма химических и биологических препаратов имеет существенные различия. Метаболизм химических препаратов происходит, в основном, в печени в процессе микросомального окисления с участием системы цитохрома P-450. Метаболизм биологических препаратов в большинстве случаев протекает с использованием тех же механизмов, что и метаболизм эндогенных белков и белков, поступающих с пищей.

В печени метаболизируются белковые препараты, таких как инсулин, глюкагон, эпидермальный фактор роста (EGF), моноклональные антитела, тканевой активатор плазминогена и др., происходит при участии специфических ферментов для данных действующих веществ. Если экскреция пептидов и белков происходит с желчью, то последующий распад и метаболизм этих соединений осуществляется в желудочно-кишечном тракте.

Неспецифические протеазы содержатся не только в печени, но и практически во всех тканях, включая кровь. Поэтому при введении биологических препаратов в организм уже на стадии всасывания возможен неспецифический протеолиз.

Продукты деградации белковых препаратов выделяются через почки или используются для синтеза других белков в клетках. В почках свободно выделяются биологические препараты и продукты их деградации с молекулярной массой не более 50 кДа. Кроме молекулярной массы белка, на выведение белков через почки влияет заряд молекулы. На щеточной кайме клеток почечного эпителия фиксированы ферменты (обладающие высокой глутамин-транспептидазной, аминокептидазной, карбоксипептидазной активностью и др.). Поэтому молекулы, которые имеют высокую молекулярную массу или высокий заряд (как положительный, так и отрицательный) могут быть подвергнуты гидролизу в почках.

При внутривенном пути введения препарат в полном объеме попадает в системный кровоток, и биодоступность (при опреде-

лении в плазме) будет составлять 100 %. Однако при подобном способе введения препарата происходит и очень быстрое выведение (клиренс) препарата.

Процесс выведения биологических препаратов, так же как и всасывание/абсорбция, для большинства биологических препаратов носит нелинейный характер. На показатели выведения биопрепарата в первую очередь влияют его физико-химические и биологические свойства. Например, для лечения болезни Виллибранда используются препараты, полученные из плазмы крови человека, которые содержат в своем составе молекулы фактора Виллибранда и VIII фактора свертывания крови (pdWVF-pdFVIII). В последнее время появились препараты, аналогичного состава, полученные с использованием технологии рекомбинантной ДНК (rWVF-rFVIII). Полученные из плазмы препараты имеют меньше связанных молекул WVF-FVIII с большой молекулярной массой, при этом соотношение молекул WVF-FVIII, которые связаны между собой, варьирует, в отличие от состава препарата, полученного на основе рекомбинантной ДНК [22]. Введение рекомбинантного и плазменного препаратов в одинаковой дозе сопровождалось более высокой максимальной концентрацией (C_{max}) pdWVF, относительно рекомбинантного препарата (рис. 4, А). Однако плазменный препарат более активно выводился из крови, чем рекомбинантный. При этом введение плазменного препарата сопровождалось и более низкой максимальной концентрацией (C_{max}) pdFVIII фактора свертывания крови и более активным его клиренсом, относительно рекомбинантного (рис. 4, Б).

Выведение биологических препаратов зависит от особенности состояния организма больного (наличие сопутствующей патологии, изменения обмена веществ и др.) и патологического процесса, что можно проиллюстрировать следующими примерами. Клиренс препарата десмопрессина (аналог вазопрессина) у здоровых лиц составляет 10 л/ч, а период полувыведения 5,7 часов, у больных с почечной недостаточностью выведение и метаболизм препарата затягиваются и составляют 2,9 л/ч и 10 часов (соответственно) [23]. У больных сахарным диабетом клиренс многих препаратов повышается приблизительно на 29%, в сравнении со здоровыми лицами. У препарата мАТ к фактору роста эндотелия сосудов (бевацизумаб) клиренс зависит не только от размера опухоли, массы тела, пола, но и от уровня альбумина в плазме. Аналогично, при лечении препаратом Симуллект (базиликсимаб), который является мАТ, для предотвращения отторжения трансплантата, у больных после трансплантации почки отмечался более активный клиренс и короткий период полувыведения, чем у больных после трансплантации печени (табл. 2) [24].

При однократном введении препарата НовоСэвен (рекомбинантный активированный VIIa фактор свертывания крови, производства Novo nordisk a/s) больным с гемофилией А и В в дозах 17,5, 35 и 70 мкг/кг средние данные распределения (в равновесной фазе и фазе выведения) и клиренса в группе больных с гемофилией без кровотечения (106, 122 мл/кг и 31,0 мл/ч*кг соот-

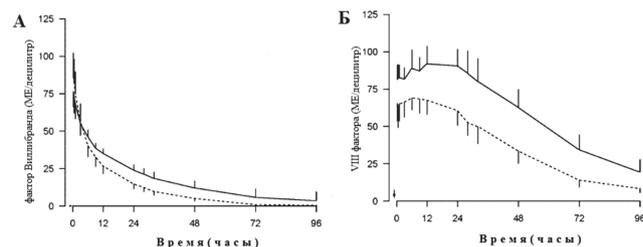


Рис. 4. Концентрация в крови фактора Виллибранда (А) и VIII фактора свертывания крови (Б) при введении препаратов, полученных с использованием технологии рекомбинантной ДНК (—) и из плазмы крови (---) [22].

Таблица 2. Показатели фармакокинетики препарата Симуллект (базиликсимаб) у больных после трансплантации почки и печени

	Объем распределения (л)	Клиренс (мл/ч)	Период полувыведения ($T_{1/2}$) (дней)
Трансплантация почки	8,0±2,4	36,7±15,2	7,4±3,0
Трансплантация печени	9,7±4,2	55±26	8,7±6,7

ветственно) были близки средним данным в группе у больных с кровотечением (103, 121 мл/кг и 32,6 мл/ч*кг соответственно). В группе больных с врожденным дефицитом FVII фактора значения клиренса были значительно выше (70–80 мл/ч/кг), чем у здоровых и взрослых больных с гемофилией. Данную особенность авторы связывают с отсутствием профермента FVII фактора у данных больных. Профермент FVII может конкурировать с FVIIa за связывание с тканевым фактором. При отсутствии профермента FVII происходит активное связывание препарата FVIIa с тканевым фактором, что сопровождается активным клиренсом комплекса [25].

В большинстве случаев выведение и метаболизм препаратов мАТ связаны с рецептор-опосредованными механизмами. Учитывая, что мАТ ритуксимаб предназначен для связывания с трансмембранным антигеном CD20, его клиренс зависит от содержания CD19-положительных клеток (соответственно и размера опухоли), что свидетельствует о рецептор-зависимом механизме его метаболизма. Несмотря на средний период полувыведения, равный 22 дням, остаточное следовое количество ритуксимаба может выявляться в организме в течение 3–6 месяцев после окончания курса лечения, что тоже может быть связано с рецептор-опосредованным механизмом [17, 26].

Приведенные примеры свидетельствуют о зависимости фармакокинетические свойства от многих факторов (физико-химических свойств, дозы, патологического процесса и др.), что не позволяет установить общие закономерности ФК биологических препаратов. Даже очень схожие биологические препараты, имеющие близкие физико-химические параметры действующего вещества будут иметь существенные различия ФК свойств между собой. Например, у препаратов на основе моноклональных антител, которые имеют единую структуру молекулы действующего вещества, определяется достаточно большой разброс показателей всасывания и выведения (табл. 3). В частности, время достижения максимальной концентрации препарата в крови после подкожного введения находится в пределах от 2 до 8,5 суток, биодоступность – от 51 до 76% и период полувыведения изменяется в диапазоне от 3,4 до 26 суток.

Таблица 3. Время достижения максимальной концентрации в крови, биодоступности и периода полувыведения препаратов моноклональных антител и белков слияния при однократном введении

Препарат	Время достижения максимальной концентрации в крови (Т _{max}) (сутки)	Биодоступность (%)	Период полувыведения Т _{1/2} (сутки)
Канакинумаб	7	66	26
Голимумаб	2 – 6	51	12
Устекинумаб	8,5	57,2	21
Адалимумаб	5	64	14
Омализумаб	7 – 8	62	26
Этанерсепт	2	76	3,4

Влияние способа введения на показатели фармакокинетики биологических препаратов

Многие показатели ФК зависят от пути введения препарата. Если при в/в введении препарат в полном объеме попадает в кровоток, то при пероральном введении в ЖКТ происходит неспецифический протеолиз белковой молекулы действующего вещества, поэтому для биологических препаратов очень редко используется последний способ введения.

Для биологических препаратов, которые являются аналогами эндогенных белков (цитокины, гормоны и др.) наиболее часто используется подкожный или внутривенный пути введения, так как они являются наиболее удобными и экономически выгодными. Скорость абсорбции при внутримышечном (в/м) и подкожном (п/к) введении может варьировать в зависимости от места и глубины инъекции, концентрации и объема вводимого раствора, активности рецептор-опосредованных механизмов, а также зависит от особенности патологического процесса. Среди основных недостатков подкожного введения следует отметить, что в ряде случаев отмечается более низкая биодоступность и потенциально высокая иммуногенность препарата [20].

Внутривенный способ чаще используется для введения препаратов мАТ и факторов свертывания крови, но некоторые препараты мАТ одобрены и для п/к введения (цертолизумаб Pegol, ада-

лимумаб, эфализумаб и омализумаб), препарат palivizumab зарегистрирован для в/м введения и ранилизумаб для введения в стекловидное тело.

Внутривенное введение биологических препаратов может сопровождаться их активным выведением. Снижение распределения и биодоступности препаратов мАТ происходит, в том числе, и за счет связывания с FcRn рецепторами. Поэтому для достижения терапевтического эффекта при в/в введении препаратов мАТ используются высокие дозы, что увеличивает стоимость лечения. Одним из путей снижения стоимости лечения может быть подавление активности FcRn-рецепторного механизма. Исследования с параллельным введением препаратов мАТ и антител против FcRn показали, что при данной схеме лечения эффективность сохраняется при снижении дозы препаратов мАТ в 100 раз [27].

Интравитреальный путь введения используется для препаратов, которые обладают только локальной активностью, в том числе и антисмысловые олигонуклеотиды. Препарат ранилизумаб является Fab-фрагментом гуманизированных мАТ к фактору роста А эндотелия сосудов человека, который вводится в стекловидное тело. Средний период полувыведения препарата из стекловидного тела составляет 9 дней, при введении препарата в дозе 0,5 мг. При ежемесячном интравитреальном введении ранилизумаб в дозе 0,5 мг/глаз максимальная его концентрация в плазме крови достигается приблизительно через день после введения препарата и составляет 0,79–2,90 нг/мл. Концентрация препарата в плазме крови приблизительно в 90 000 раз ниже, чем в стекловидном теле. Уровень системного клиренса у больных с заболеваниями почек был ниже, однако, это не оказывало влияния на клиническую эффективность препарата [28].

В настоящее время идет постоянный поиск новых более эффективных и менее травматичных способов введения биологических препаратов. Недавно был зарегистрирован препарат инсулина в аэрозольной форме, который вводится ингаляционно. Биодоступность вдыхаемого инсулина составляет 9–22%, что соответствует биодоступности при п/к введении препаратов инсулина. Время достижения максимальной концентрации (Т_{max}) при ингаляционном введении составляет 7–80 минут, а при п/к введении в течение 42–274 минут. Продолжительность действия инсулина при ингаляционном введении такое же, как при п/к, но изменение уровня глюкозы и элиминация инсулина после ингаляции происходят быстрее, чем при п/к введении [29]. Среди других способов в настоящее время применяется интраназальное введение кальцитонина, лютеинизирующего гормона, окситоцина и интерферонов [30].

Влияние рецептор-опосредованных механизмов на фармакокинетические свойства биологических препаратов

В основе механизма действия биологических препаратов лежит взаимодействие с “рецептором-мишенью”, которые могут находиться на поверхности клетки или в плазме (так называемые растворимые рецепторы). Помимо “рецепторов-мишеней”, препараты на основе моноклональных антител и препараты, которые содержат в своем составе Fc фрагмент молекулы иммуноглобулина, обладают способностью взаимодействовать с Fcγ- и FcRn-рецепторами, что оказывает влияние не только на выведение и метаболизм препарата, но и на его всасывание и биодоступность.

При взаимодействии с “рецепторами-мишенями”, с одной стороны, биологический препарат не будет определяться в крови, что может отразиться на показателях биодоступности и выведения. С другой стороны, взаимодействие с “рецептором-мишенью” может привести к опосредованному рецептором поглощению препарата клетками-мишенями и внутриклеточному метаболизму. В связи с этим, различия в степени экспрессии и насыщенности специфических рецепторов на клетках тканей и органов между здоровыми добровольцами и больными могут быть причиной значительных различий показателей выведения препарата.

В качестве примера может служить чрезмерная экспрессия соответствующих рецепторов на клетках опухолевой ткани. Fracasso PM, с соавт. (2007) при изучении фармакологических свойств ритуксимаба провели сравнение показателей ФК больных и здоровых лиц, которое показало, что взаимодействие препарата с рецептором фактора роста эндотелия (EGFR) приво-

дит к развитию нелинейной кинетики элиминации препарата [31], аналогичная зависимость была получена в других работах [34, 35]. Поэтому способность взаимодействовать биологического препарата с рецептором-мишенью следует учитывать при использовании результатов оценки ФК здоровых лиц для прогнозирования кинетики препарата в организме больного.

Следует отметить, что введение самого биологического препарата может влиять на количество рецепторов-мишеней. Например, введение препарата Nplate® (рекомбинантный тромбopoэтин) увеличивает количество тромбоцитов и тем самым рецепторов (C-MPL) для тромбopoэтина [36].

Биологические препараты, которые являются аналогами эндогенных цитокинов, могут связываться с растворимыми рецепторами, которые описаны как цитокинсвязывающие агенты. На моделях животных были описаны растворимые рецепторы к ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-6 и ФНОα, которые не подавляли синтез цитокинов и стабилизировали молекулы препаратов при связывании. Это приводило к снижению метаболизма и увеличению периода полувыведения биологических препаратов [37–42]. Например, клиренс комплекса гормон роста – растворимый рецептор происходит в 10 раз медленнее, чем гормона роста в несвязанном состоянии [43, 44]. Физиологическое значение растворимых рецепторов до конца не установлено, однако невысокий рост горного народа Папуа Новая Гвинея исследователи связывают с дефицитом (до 50%) и низким аффинитетом растворимого рецептора к фактору роста (гормону роста и инсулиноподобному фактору роста-1) [45].

Метаболизм и элиминация препаратов моноклональных антител и их производных, содержащих Fc-фрагмент иммуноглобулина, может происходить при участии FcγR-опосредованного механизма клиренса. Препараты, имеющие в своей структуре Fc-фрагмент, другим своим участком (Fab) могут связываться с веществами, образуя иммунные комплексы. Fc фрагмент препарата, в составе иммунного комплекса, может связываться с FcγR рецепторами на клетках, с последующим поглощением и перевариванием в лизосоме до пептидов и аминокислот. В этом процессе активное участие принимают клетки фагоцитарной системы (макрофаги, моноциты, нейтрофилы) и др. Именно за счет фагоцитоза иммунных комплексов можно объяснить нелинейную динамику омализумаба и деносумаба с растворимыми в плазме факторами (IgE и рецептор активатора ядерного фактора κB-лиганда) [46, 47].

Процесс связывания с FcγR рецептором зависит от физико-химических свойств Fc-фрагмента, которые можно изменять, используя различные методы модификации белка. Гликолизирование (с низким уровнем фукозы) IgG в препарате Roledumab привело к повышению связывания с FcγR рецепторами и увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности, в сравнении с фукозиллированными молекулами [48].

Препараты мАТ и их производные обладают способностью связываться с FcRn-рецептором, который получил название рецептор Брамбелла, который впервые был обнаружен на клетках кишечника новорожденных крыс. У взрослого человека FcRn-рецептор определяется в большом количестве на клетках эндотелия сосудов. Структурно FcRn-рецептор незначительно отличается от антигенов главного комплекса гистосовместимости класса I, который представляет собой гликопротеин с м.м. 52 кДа, экспрессированный на мембране клеток.

FcRn-рецептор обладает уникальной способностью связываться Fc-фрагментом молекулы IgG только при pH в диапазоне 6.0–6.5, при повышении значений pH до 7.0–7.5, отмечается очень слабое или полное отсутствие связывания. При взаимодействии указанного рецептора с Fc-фрагментом молекулы IgG препарата моноклональных антител происходит неспецифический эндоцитоз данного комплекса (жидкая фаза пиноцитоза) эндотелиальной клеткой. При восстановлении pH до физиологического уровня комплекс транспортируется на поверхность клетки и молекула мАТ высвобождается из указанного комплекса.

Таким образом, связывание препарата мАТ с FcγR рецептором сопровождается пиноцитозом в лизосомы, с последующим протеолизом, а при связывании с FcRn рецептором препараты мАТ также происходит пиноцитоз, но мАТ сохраняются в клетке без протеолиза [2, 4, 11, 26–28, 48].

Способность препарата связываться с FcRn-рецептором, влияет на все этапы его кинетики. Экспериментально было показано, что биодоступность IgG1 антитела после подкожного введения в

3 раза выше у мышей дикого типа, чем у FcRn-дефицитных мышей [28]. Модификация молекулы IgG может повысить способность препарата мАТ взаимодействовать с FcRn-рецептором. За счет гикозилирования, в препарате бевацизумаб было повышено сродство к FcRn-рецептору человека, в результате чего при введении препарата мышам и обезьянам удалось увеличить период полувыведения препарата в 3 раза (до 4 недель) [4, 49–51].

FcRn человека может связывать IgG человека, кролика и морской свинки, но не крысы, мыши, овцы и быка. Однако FcRn мыши связывает IgG всех указанных видов животных. Человеческий IgG1 имеет в 8 раз более высокое сродство с мышинным FcRn, чем с человеческим, что является ограничением для изучения на мышах влияния рецепторного механизма на кинетику биологического препарата [52–54]. Мышинные мАТ имеют низкое сродство с FcRn человека, соответственно, период полувыведения препаратов на основе мышинных мАТ меньше, чем препаратов на основе человеческих мАТ. В частности, период полувыведения препаратов на основе мышинных мАТ (muromonab-CD, Ibritumomab) составляет 1 день, в то время как у препаратов мАТ на основе человеческих IgG достигает 25 дней [27].

Связывание с FcRn рецептором препаратов мАТ влияет не только на ФК свойства, но и на их эффективность. Средняя концентрация в плазме IgG составляет 10 мг/мл, при данной концентрации $T_{1/2}$ составляет около 25 сут, клиренс 10 мл/ч (3.5 мл/кг/сут). При увеличении концентрации IgG в плазме происходит насыщение FcRn рецепторов и катаболизм IgG усиливается. Например, при миеломной болезни концентрация IgG может достигать 100 мг/мл, а период полувыведения ($T_{1/2}$) уменьшается до 8–10 сут. И, наоборот, у лиц с низким уровнем IgG период полувыведения ($T_{1/2}$) может достигать 70 сут [27]. Препараты мАТ вводят в основном в дозах, которые увеличивают концентрацию IgG на 1–2%. Тем не менее, введение IgG в процессе лечения увеличивает клиренс примерно в 3 раза. При этом происходит элиминация не только моноклональных антител, которые являются действующим веществом препарата, но и эндогенных антител, в том числе и аутоантител, которые играют основную роль в патогенезе аутоиммунного процесса. Xu X. с соавт. (2012) считают, что при ревматических заболеваниях увеличенный клиренс антител вносит определенный вклад в терапевтическую эффективность препаратов мАТ для лечения аутоиммунных заболеваний [27].

Таким образом, при связывании молекулы препарата моноклональных антител с FcRn-рецептором в процессе неспецифического эндоцитоза не происходит лизосомального метаболизма и деградации молекулы действующего вещества препарата внутри клетки. Поэтому такие свойства препаратов моноклональных антител, как аффинность связывания с FcRn-рецептором, и уровень экспрессии FcRn-рецептора играют значительную роль в процессах всасывания, распределения и выведения биологических препаратов на основе моноклональных антител.

Тем не менее, остается еще много спорных вопросов относительно роли FcRn рецепторов в механизмах выведения белковых препаратов. Deng и соавт. [38] показали, что препараты моноклональных антител к фактору некроза опухолей, характеризующиеся высокой степенью сродства к FcRn-рецептору, при pH введения и нейтральном pH среды имеют низкую биодоступность, а в месте инъекции наблюдается их ускоренная деградация. Для некоторых моноклональных антител не была выявлена корреляция между способностью взаимодействовать с FcRn-рецептором при pH 6.0 *in vitro* и результатами клинических исследований ФК по показателям биодоступности и периода полувыведения [34, 38–41]. В ряде работ показано, что FcRn принимают участие в реабсорбции белков и альбуминов в почечных канальцах [55–57]. В то же время Sarav M. с соавт. (2009) считают, что с участием FcRn происходит реабсорбция только альбуминов и FcRn рецепторы не влияют на метаболизм белков в почках [58].

Влияние модификаций биопрепаратов на показатели ФК

Основной проблемой биологических препаратов, в отличие от химических, является поддержание стойкой стабильности многомерной структуры молекулы действующего вещества. Активный центр препарата (участок, ответственный за связывание с лигандом) часто образован вторичной и третичной структурой белковой молекулы. Формирование многомерной структуры белка происходит за счет водородных, Ван-Дервальсовых сил

и других нековалентных связей, а не за счет прочных ковалентных связей. Как известно, нековалентные связи являются очень слабыми и легко разрушаются, поэтому минимальные изменения обычных условий могут привести к нарушению структуры активного центра действующего вещества.

Следующим фактором, влияющим на стабильность молекулы биологического препарата, является наличие в составе белка (чаще в боковых цепях) функциональных групп, обладающих высокой способностью вступать в химические реакции (реакционно-способные группы). Известно, что содержание в функциональных группах боковых цепей глутамина и аспарагина снижает устойчивость белковой молекулы к дезамидированию; наличие гистидина, метионина, цистеина, триптофана и тирозина – к окислению; серина, треонина, фенилаланина, лизина и цистеина – к β -элиминированию. Химические реакции с участием данных групп обычно сопровождаются нарушением структурной целостности (деградации) белковой молекулы. Кроме того, процесс химической деградации с участием реакционно-способных групп белковой молекулы может сопровождаться фрагментацией (в области дисульфидных связей), обменом молекул между разными участками, образованием новых связей между элементами молекулы белка, образованием агрегатов и др. Данные нарушения физико-химических свойств сопровождаются изменением фармакокинетических, фармакодинамических свойств и, соответственно, безопасности и эффективности применения биологических препаратов.

Учитывая, что действующее вещество должно быть устойчиво к действию факторов, которые могут привести к его деградации или агрегации, одной из главных задач, при создании биологического препарата, является сохранение стабильности многомерной структуры белка действующего вещества. Для повышения стабильности белковой молекулы обычно используется: разработка оптимального состава вспомогательных веществ (стабилизаторы, наполнители и др.), модификация (например, мутации, гликозилирование, пегилирование, конъюгация и т.п.), использование парентерального пути введения (для предотвращения деградации ферментами ЖКТ) и др.

Наиболее распространенным способом повышения стабильности действующего вещества является гликозилирование белковой молекулы, которое, кроме вышеуказанного, приводит к повышению безопасности и эффективности биопрепарата. Это обусловлено тем, что в процессе гликозилирования молекула белка действующего вещества приобретает новые свойства. Во-первых, гликозилирование может привести к экранированию/маскировке сайтов, которые проявляют неустойчивость к протеолизу или являются ответственными за иммуногенные свойства, за счет чего повышается стабильность и безопасность препарата. Во-вторых, гликозилирование может повлиять на потенциальную возможность связывания между собой различных участков белковой молекулы, что отражается на стабильности белковой молекулы. В-третьих, гликозилирование может изменить общий и местный заряды молекулы белка, что влияет на длительность выведения биологического препарата из организма и, в-четвертых – оказывает влияние на связывание с рецептором-мишенью.

Все эти, обусловленные гликозилированием факторы, могут влиять на фармакокинетические и фармакодинамические свойства препаратов. Например, увеличение количества гликановых структур в молекуле белка препарата может удлинить период циркуляции препарата в организме, однако это может сопровождаться снижением аффинитета при связывании с рецептором-мишенью. Для препаратов на основе моноклональных антител гликозилирование в области Fc фрагмента может усилить связывание с Fc γ R-рецептором (на поверхности макрофагов и Т-киллеров) и системной комплемента, что в свою очередь может привести к увеличению метаболизма препарата за счет иммунологических механизмов элиминации иммунных комплексов [59–61].

Широкое применение для модификации биологических препаратов полиэтиленгликоля связано с его основными физико-химическими свойствами – гидрофильностью и устойчивостью к деградации. Приобретение этих свойств препаратом в процессе пегилирования, увеличивает период полувыведения препарата, снижает почечную элиминацию, влияет на распределение и снижает иммуногенность препарата. Однако это может привести и к снижению аффинности связывания пегилированного препарата с рецептором-мишенью.

Таблица 4. Показатели фармакокинетики нативных рекомбинантных и модифицированных препаратов эпоэтинов и интерферонов альфа-2а

Активное вещество	М.м. кДа	Биодоступность при п/к введении (%)	Период полувыведения при в/в введении (час)	Период выведения при п/к введении (час)
Эпоэтин альфа	29,9	25	5–6	16–24
Эпоэтин бета	29,9	23–42	6–9	13–28
Дарбэпоэтин альфа	37,4	37	25	48
Пегэпоэтин альфа	60	54–62	133	137
Интерферон альфа-2а	19	80	3,7–8,5	
Пегинтерферон альфа-2а	40	84	60–80	84–353

Влияние различных модификаций на ФК свойства биологических препаратов, хорошо иллюстрируются на примере препаратов рекомбинантных эпоэтинов и интерферонов.

Увеличение количества изоформ в эпоэтине бета (за счет основных изоформ), в сравнении с эпоэтином альфа, вызывает увеличение максимального значения биодоступности с 25 до 42% и времени выведения (с 24 до 28 часов) (табл. 4). Увеличение количества цепочек полисахаров в N-области молекулы с 3 (эпоэтин альфа и бета) до 5 в препарате дарбэпоэтин сопровождается повышением молекулярной массы (до 37,4 кДа), относительно эпоэтинов альфа и бета (29,9 кДа). Увеличение молекулярной массы и стабильности молекулы действующего вещества дарбэпоэтина сопровождается повышением биодоступности (37%) и времени полувыведения при внутривенном и подкожном введении (25 и 48 ч соответственно). Аналогичная закономерность наблюдается и при увеличении молекулярной массы (до 60 кДа) в процессе пегилирования эпоэтина альфа (табл. 4). Увеличение молекулярной массы при модификации молекулы активного вещества интерферона альфа 2а за счет пегилирования также приводит к повышению периода полувыведения препарата при внутривенном введении до 60–80 часов, при 3,7–8,5 часов у непегилированного препарата.

Для повышения ФК и ФД свойств белковых препаратов используется конъюгация действующего вещества или участка действующего вещества с веществами белковой природы, в качестве которых используют Fc фрагмент, альбумин, фактор фон Виллибранда и др. Как и при пегилировании, конъюгация позволяет увеличить период полувыведения биопрепарата при сохранении эффективности (специфической активности) [62, 63]. При этом положительные эффекты данной модификации авторы связывают в первую очередь с увеличением молекулярной массы, которая повышает период выведения препарата, во-вторых, вероятно, с экранированием участков, которые чувствительны к деградации или связаны с иммуногенными свойствами препарата.

Кроме повышения ФК и ФД свойств белковых препаратов различными модификации действующего вещества позволяют использовать более щадящие схемы лечения, в сравнении с нативными препаратами. Например, если препараты немодифицированных эпоэтинов альфа и бета вводятся 2–3 раза в неделю, то дарбэпоэтин и пегэпоэтин альфа – 1 раз в неделю. В тоже время модификация может привести к сужению диапазона показаний к применению.

Появление препаратов нового класса (на основе моноклональных антител) привело к открытию новых свойств, которые вносят свой вклад в процесс абсорбции биологических препаратов. Как указано в обзоре Босвелл и др. (2010), в молекуле препаратов мАТ в процессе посттрансляционных модификаций возможно появление неоднородно заряженных участков или изменение общего заряда. Авторы показали, что заряд молекулы действующего вещества влияет на ФК и ФД свойства. Во-первых, общий заряд белковой молекулы влияет на стабильность третичной и четвертичной структуры белка. Во-вторых, возможно взаимодействие положительно заряженной молекулы активного вещества с отрицательно заряженными молекулами эндогенных белков, что может повлиять на распределение, выведение, взаимодействие с FcRn-рецепторами и т.д. [64].

Данные особенности влияния заряда молекулы активного вещества препарата используются разработчиками для повышения качества препаратов моноклональных антител – повышение

положительного заряда молекулы приводит к сокращению периода полувыведения и, наоборот, увеличение отрицательного заряда сопровождается увеличением периода полувыведения и периода взаимодействия с рецептором-мишенью [99–101]. При этом четко установить зависимость между такими показателями, как распределение/выведение и заряд молекулы очень сложно.

При создании нового биологического препарата разработчик стремится добиться максимальной близости структуры белковой молекулы действующего вещества лекарственного препарата с эндогенным белком человека, предполагая, что метаболизм биологического препарата будет происходить с участием тех же механизмов, что и метаболизм эндогенного белка. Однако при разработке биологического препарата для повышения его эффективности и безопасности используются различные технологические приемы и модификации (гликозилирование, пегилирование и др.), которые приводят к различиям между структурой молекулы биопрепарата и его эндогенного аналога. Поэтому закономерности метаболизма эндогенных белков не всегда соответствуют метаболизму биологических препаратов [1].

Влияние иммуногенности на фармакокинетические свойства биологических препаратов

Введение чужеродного белка в организм приводит к развитию иммунного ответа. Потенциально на любой биологический препарат могут быть выработаны антитела. Появление антител к препарату в первую очередь приводит к развитию нелинейной кинетики выведения биопрепарата (чаще наблюдается снижение концентрации препарата в плазме).

Иммуногенность биологического препарата определяется многими факторами, среди которых следует отметить степень близости/сходства действующего вещества препарата с эндогенным аналогом, наличие в препарате В- и Т-клеточных эпитопов, посттрансляционные модификации белковой молекулы (гликозилирование, окисление), изменение третичной структуры белка, которое предрасполагает к агрегации, наличие примесей, доза препарата, путь введения, особенности состояния больного, прием сопутствующих препаратов, особенно которые влияют на систему иммунитета, и др. Указанные факторы могут быть сами причиной иммуногенности или могут усиливать иммунный ответ на препарат. Причем, к некоторым препаратам выработка антител происходит достаточно активно (рис. 5).

Антитела, вырабатываемые в ответ на введение препарата, взаимодействуют с препаратом с образованием иммунного комплекса препарат–антитело, который обычно метаболизируется в печени [65–69], поглощаются клетками ретикулоэндотелиальной системы, или, при участии 1 компонента комплекса, может связываться с эритроцитами и с током крови доставляется к фагоцитирующим клеткам (например, клетки Купфера в печени) [66]. Это может привести к снижению биодоступности и/или более активному выделению препарата. Например, увеличение клиренса препарата мАТ адалимумаба возрастает с увеличением массы тела больного и выработки антител к адалимумабу. В некоторых случаях иммунные комплексы выступают в роли своеобразного “депо” для препарата, что позволяет поддерживать устойчивую концентрацию препарата [70].

Образование иммунного комплекса препарат–антитело снижает проникновение биологического препарата в ткань (снижа-

ется показатель распределения). При этом антитела к препарату, особенно нейтрализующие, существенно влияют не только на фармакокинетические, но и на фармакодинамические свойства. Они могут связывать (нейтрализовать) эндогенные белки, для замещения которых используется препарат (например, препараты эпоэтина и VIII фактора свертывания крови) [71–73].

Особого внимания требуют те состояния, при которых нарушается естественный метаболизм иммунных комплексов, причинами которого могут быть образование большого количества комплексов препарат–антитело или выработка антител некоторых изотипов, недостаточность системы комплемента, снижение количества эритроцитов или сниженная активность фагоцитов. В подобной ситуации, избыток комплементсвязывающих иммунных комплексов может откладываться в органах и тканях (например, в почках), что может привести к развитию тяжелых реактивных иммунокомплексного типа.

Препараты на основе мышиных мАТ обладают высокой иммуногенностью, химерные мАТ в 90% случаев вызывают выработку антител, а человеческие мАТ до 10% (рис. 5). Иммунный ответ на введение биологического препарата не всегда развивается быстро. В частности, при введении инфликсимаба (химерное мАТ), в первые 2–3 месяца антитела к препарату практически не определяются, а через 12 месяцев определяются практически у 90% больных, что необходимо учитывать при оценке ФК препаратов, в отношении которых можно предположить развитие иммунного ответа.

В литературе продолжают дискуссии о влиянии дозы биологического препарата на иммунный ответ. Традиционно считается, что низкие дозы биологического препарата более активно вызывают развитие иммунного ответа, в сравнении с высокими дозами. Stephens с соавт. (1995) изучали иммуногенность при введении препаратов мАТ (CDP571) в разных дозах (от 0,1 до 5 мг/кг) и выявили снижение иммуногенности с увеличением дозы препарата. Однако авторы исследования считают, что на более высокие дозы развивается и более активная иммунная реакция, с выработкой большого количества антител. При этом антитела и более активно связываются с препаратом, что не позволяет определить истинный уровень иммунного ответа [47].

Изучение фармакокинетических свойств биологических препаратов

Оценить фармакокинетические свойства некоторых биологических препаратов невозможно, например, препаратов аллергенов, в связи с их низкой концентрацией в крови. Для вакцин изучение ФК не проводится, однако, если разрабатывается вакцина с использованием новых биотехнологических подходов или если в состав вспомогательных веществ (вещества для доставки антигена к мишени, наполнители и др.) включается новое вещество, может возникнуть необходимость оценки фармакокинетических свойств вакцины. Например, при изучении вакцины Церварикса (рекомбинантная адсорбированная вакцина для профилактики заболеваний, вызванных вирусами папилломы человека, содержащая адъювант AS04) было проведено изучение ФК на крысах при внутримышечном и внутривенном введении препарата с радиоактивной меткой. При внутримышечном введении период полувыведения составил 76,5 часов. Радиоактивность регистрировалась на протяжении длительного периода времени до 56 дней. Вне зависимости от пути введения, наибольшая концентрация препарата определялась в селезенке и жировой ткани.

Основными международными документами, регламентирующими изучение ФК биологических препаратов, являются, разработанные ВОЗ рекомендации для доклинических и клинических исследований препаратов, полученных на основе технологии рекомбинантной ДНК, и рекомендации для оценки ФК биологических препаратов, подготовленные в EMA [74, 75]. Во многих документах для проведения доклинических и клинических исследований конкретных биологических препаратов включены рекомендации для изучения ФК. В частности указания для изучения ФК представлены в рекомендациях для клинических исследований плазменных и рекомбинантных факторов VIII или IX свертывания крови, рекомендации для доклинических и клинических исследований биоподобных эпоэтинов, филграстимов, интерферонов, препаратов мАТ и др.

Фармакокинетические свойства некоторых биологических препаратов могут быть спрогнозированы на основании общей закономерности кинетики и распределения белков и пептидов

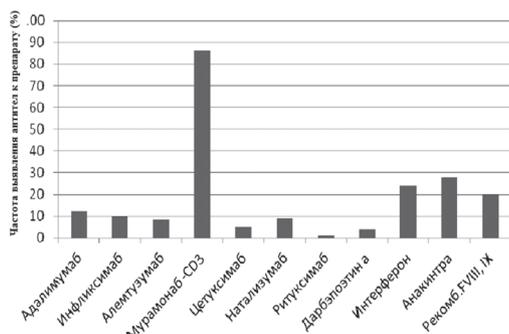


Рис. 5. Частота выработки антител в ответ на введение биологических препаратов.

в естественных условиях. Известно, что в естественных условиях гормоны, как правило, имеют короткий период полувыведения. Соответственно можно полагать, что и у препаратов, которые являются аналогами эндогенных гормонов, будет такой же период полувыведения. В противоположность этому, у альбумина или препаратов моноклональных антител период полувыведения равен нескольким дням, что позволяет длительно поддерживать уровень препарата в кровотоке.

Однако кинетика и метаболизм биологических препаратов не всегда соответствует их эндогенным аналогам. Vugmeyster Y. и др. (2011) и Vumbaca др. (2011) при доклинических исследованиях ФК на макаках выявили более высокий клиренс препаратов мАТ, специфичных к пептиду амилоида бета и рецептору 4 FGF. В первом случае высокий клиренс авторы объясняют способностью препарата связываться с фибриногеном, во втором – с 3-им компонентом комплекса [76, 77].

Обычно, изучение фармакокинетических свойств биологического препарата начинается с исследований на здоровых добровольцах в рамках первой фазы клинических исследований. Во второй фазе клинических исследований проводится изучение ФК и ФД свойств на больных. Полученные результаты изучения ФК среди взрослых лиц экстраполируются на детей.

Для некоторых препаратов, которые предназначены для лечения опухолевых заболеваний и являются высоко токсичными, или орфанных препаратов, разработанных для лечения редких заболеваний, допускается изучение ФК сразу на больных и даже детях, без предварительного изучения на здоровых. Например, изучение фармакокинетических свойств рекомбинантных или плазменных VIII и IX факторов свертывания крови допускается сразу на детях с тяжелой формой гемофилии, даже при сопутствующем СПИДе, если у них уровень CD4 более 200 мкл [78, 79].

Большинство биологических препаратов вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно. Изучение абсорбции/всасывания при данных способах введения биологического препарата проводится на здоровых добровольцах или больных по всем показателям (скорости и степени всасывания). Для характеристики абсорбции/всасывания и для сравнительной оценки всасываемости при разных способах введения препарата, как правило, бывает достаточно однократного введения препарата. Точные данные о распределении биологического препарата могут быть получены при использовании радиоактивной метки. При необходимости проводится оценка степени связывания препарата с белками плазмы (альбумин, α -кислый гликопротеин и др.).

Программа изучения элиминации (выведения) биологического препарата в значительной степени зависят от размера молекулы. Белковые молекулы с молекулярной массой до 50 кДа выводятся через почки. Метаболизм более крупных молекул в первую очередь происходит в клетках печени или ретикулоэндотелиальной системы. Поэтому полная характеристика выведения биологического препарата должна включать не только данные о выведении молекулы действующего вещества, но и его продуктов метаболизма, которые могут обладать активностью. ФК профили продуктов распада могут отличаться от показателей ФК нативной молекулой препарата. В тех случаях, когда измерение отдельных активных пептидных фрагментов технически невозможно, могут быть определены показатели ФК активного вещества. Более точные данные могут быть получены при использовании радиоизотопной метки. Следует учитывать, что при этом возможно высвобождение радиоактивной метки и включение ее в метаболизм других белков.

Для препаратов, полученных с использованием технологии рекомбинантной ДНК, соотношение «доза–концентрация» не всегда имеет прямую/линейную зависимость. Это может быть вызвано повышенной активностью специфических рецепторов (в ответ на введение препарата) или выработкой антител к препарату и, обычно, определяется при многократном введении. Препараты или их фрагменты с высокой иммуногенностью активностью могут связываться с рецепторами или антигенами, значительно удлиняя период выведения. В подобных ситуациях изучение ФК следует проводить при введении нескольких доз препарата и длительном наблюдении.

В связи с тем, что биологические препараты с молекулярной массой до 50 кДа выводятся через почки, ФК свойства биологических препаратов должны быть изучены на больных с почечной недостаточностью. При этом следует учитывать, что почечная недоста-

точность влияет не только непосредственно на выведение препарата, но на работу других органов и систем организма. В частности при почечной недостаточности может наблюдаться повышение или снижение активности ферментов или количества рецепторов, что, соответственно, отразится на ФК и ФД свойствах препарата. Изучение ФК среди больных с печеночной недостаточностью необходимо для препаратов, метаболизм которых связан с функцией печени.

Оптимальные дозы и схемы дальнейшего клинического применения препарата разрабатываются на основании результатов определения концентрации действующего вещества в тканях, при этом важную роль играют методы его определения. Большинство методов основано на способности действующего вещества связываться с лигандом с использованием радиоактивной или флуоресцентной меток. Методы определения уровня активного вещества в ткани являются трудоемкими, требуют больших временных затрат. При этом методы могут иметь низкую чувствительность и имеют ряд ограничений [74, 75].

Очень сложными и трудоемкими являются исследования в тех случаях, когда требуется оценить не только уровень в организме препарата, но концентрацию фрагментов препарата (изоформы, которые входят в состав препарата или примеси) в плазме или в ткани. Определение ФК данных веществ возможно только с использованием методов жидкостной хроматографии или масс-спектрометрии.

В исследованиях, которые основаны на сравнении двух препаратов, таких как демонстрация подобия/сходства биоподобного и референтного (оригинального) препаратов или при оценке сопоставимости препаратов, полученных до внесения изменений в производственный процесс и после, основной целью изучения ФК является выявление потенциальных различий между сравниваемыми препаратами, а не просто оценка ФК свойств изучаемых препаратов [80, 81]. В подобной ситуации наиболее точно оценить ФК свойства двух препаратов позволяет перекрестное исследование с участием здоровых добровольцев.

В частности, в сравнительном клиническом исследовании 3 инсулинов Marvel, которые разрабатывались как биоподобные (“biosimilars”), в качестве препарата сравнения (референтный) использовали оригинальный препарат Humulin. Главным доводом, на основании которого эксперты ЕМА стран ЕС не признали доказанным подобие/сходство данных препаратов, явилось различие профилей ФК и ФД инсулина и глюкозы в ответ на введение изучаемого и оригинального препаратов (рис. 6). При этом кроме различий между самими показателями ФК, разработчиком были представлены данные изучения ФК в течение 24 часов, что было признано недостаточным для демонстрации сходства/подобия препаратов Marvel и Humulin, так как концентрация инсулина еще не вернулась к исходному уровню (рис. 6, А) [82].

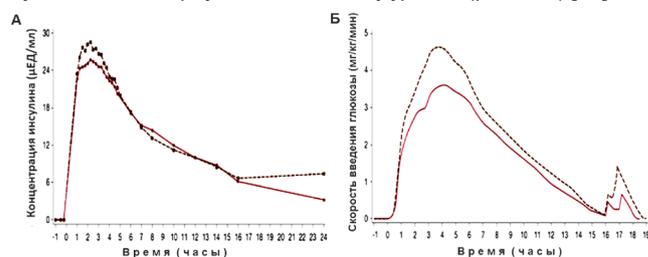


Рис. 6. Кинетика концентрации инсулина в крови после введения препаратов Marvel (---) и Humulin (—) (А) и изменение скорости введения глюкозы (Б) в ответ на введение препаратов [82].

Закключение

Основные фармакологические свойства препарата: всасываемость, распределение, метаболизм и взаимодействие с рецептором-мишенью оцениваются в процессе ФК и ФД исследований. В отличие от химических препаратов, биологические препараты имеют особенности, связанные со строением молекулы действующего вещества, стабильности, составу и др., которые отражаются на их фармакокинетических свойствах. Особенности структуры, состава, производства и механизма действия биологических препаратов лежат в основе особенности их ФК и ФД свойств. В первую очередь особенности ФК связаны со способностью биологических препаратов специфически взаимодейство-

вать с рецептором-мишенью и FcRn рецептором, взаимодействовать с FcγR, с последующей активацией механизмов иммунологической элиминации иммунных комплексов, иммуногенностью, с возможной выработкой нейтрализующих антител и др. Исследований ФК на животных не всегда можно экстраполировать на человека в силу видоспецифичности биологических препаратов.

Клинические исследования ФК обычно проводятся с использованием разных доз препарата, что позволяет и оценить его ФК свойства и подобрать оптимальные дозы. При проведении исследований ФК и ФД основное внимание следует уделить выбору соответствующих групп исследуемых, методов оценки показателей, длительности наблюдения и результаты предыдущих доклинических исследований.

Результаты изучения ФК и ФД являются основанием для разработки программы дальнейших этапов клинических исследований.

При проведении сравнительных исследований для доказательства подобия/сходства, разрабатываемого биоподобного и оригинального препаратов, или при сравнении препаратов при внесении изменений в производственный процесс, основное внимание необходимо уделить правильному планированию исследований с оптимальным подбором добровольцев, доз препарата и времени наблюдения, учитывая, что основной целью данных исследований является выявление потенциальных различий между сравниваемыми препаратами.

Литература:

1. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development. Edited by Bernd Meibohm. WILEY-VCH Verlag GmbH. 2006.
2. Mould DR, Sweeney KR. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies – mechanistic modeling applied to drug development. *Current Opinion in Drug Discovery & Development* 2007; 10(1): 84–96.
3. Baumann A. Early Development of Therapeutic Biologics – Pharmacokinetics. *Current Drug Metabolism* 2006; 7: 15–21.
4. Keizer RJ, Huitema AD, Schellens JH, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet*. 2010; 49: 493–507.
5. Gibson CR, Sandu P, Hanley WD. Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. In: An Z, editor. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics, in Therapeutic monoclonal antibodies: From bench to clinic. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Son Inc.; 2009.
6. McDonald TA, Zepeda ML, Tomlinson MJ, Bee WH, Ivens IA. Subcutaneous administration of biotherapeutics: current experience in animal models. *Curr Opin Mol Ther*. 2010; 12: 461–470.
7. Beshyah SA, Anyaoku V, Nithithyananthan R, Sharp P, Johnston DG. The effect of subcutaneous injection site on absorption of human growth hormone: abdomen versus thigh. *Clin Endocrinol*. 1991; 35: 409–412.
8. Kagan L, Gershkovich P, Mendelman A, Amsili S, Ezov N, Hoffman A. The role of the lymphatic system in subcutaneous absorption of macromolecules in the rat model. *Eur J Pharm Biopharm*. 2007; 67: 759–765.
9. Kagan L, Turner MR, Balu-Iyer SV, Mager DE. Subcutaneous absorption of monoclonal antibodies: role of dose, site of injection, and injection volume on rituximab pharmacokinetics in rats. *Pharm Res*. 2012; 29: 490–499.
10. Lin JH. Pharmacokinetics of biotech drugs: peptides, proteins and monoclonal antibodies. *Curr Drug Metab*. 2009; 10: 661–691.
11. Xiao JJ. Pharmacokinetic Models for FcRn-Mediated IgG Disposition. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012; 2: 1–13.
12. Kurzrock R, Rosenblum MG, Sherwin SA, et al. Pharmacokinetics, singledose tolerance, and biological activity of recombinant gamma-interferon in cancer patients. *Cancer Res*. 1985; 45: 2866–2872.
13. Radwanski E, Perentesis G, Jacobs S, et al. Pharmacokinetics of interferon α-2b in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*. 1987; 27: 432–435.
14. McLennan DN, Christopher JH, Porter E, et al. Lymphatic absorption is the primary contributor to the systemic availability of epoetin alfa following subcutaneous administration to sheep. *J Pharmacol Experim Therapeut*. 2004; 313: 345–351.
15. Vugmeyster Y, DeFranco D, Szkut P, Wang Q, Xu X. Biodistribution of [125I]-labeled therapeutic proteins: application in protein drug development beyond oncology. *J Pharm Sci*. 2010; 99: 1028–1045.
16. Dong JQ, Salinger DH, Endres CJ, Gibbs JP, et al. Quantitative prediction of human pharmacokinetics for monoclonal antibodies: retrospective analysis of monkey as a single species for first-in-human prediction. *Clin Pharmacokinet*. 2011; 50: 131–142.
17. Kagan L, Turner MR, Balu-Iyer SV, Mager DE. Subcutaneous absorption of monoclonal antibodies: role of dose, site of injection, and injection volume on rituximab pharmacokinetics in rats. *Pharm Res*. 2012; 29: 490–499.
18. Zapf J, Hauri C, Waldvogel M, et al. Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulinlike growth factors I and II in normal and hypophysectomized rats. *J Clin Invest*. 1986; 77: 1768–1775.
19. Charman SA, Segrave AM, Edwards GA, Porter CJ. Systemic availability and lymphatic transport of human growth hormone administered by subcutaneous injection. *J Pharm Sci*. 2000; 89: 168–177.
20. Richter WF, Bhansali SG, Morris ME. Mechanistic Determinants of Biotherapeutics Absorption Following SC Administration. *The AAPS Journal*, 2012; 14(3): 559–570.
21. Bocci V, Muscettola M, Grasso G, Magyar Z, et al. The lymphatic route. 1) Albumin and hyaluronidase modify the normal distribution of interferon in lymph and plasma. *Experientia* 1986; 42: 432–433.
22. Mannucci PM, Kempton C, Millar C, Romond E, et al. Pharmacokinetics and safety of a novel recombinant human von Willebrand factor manufactured with a plasma-free method: a prospective clinical trial. *Blood* 2013; 122(5): 648–657.
23. Agerso H, Laesen LS, Riis A, et al. Pharmacokinetics and renal excretion of desmopressin after intravenous administration to healthy subjects and renally impaired patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2004; 58: 352–358.
24. Kovark JM, Kahan BD, Rajagopalan PR, et al. Population pharmacokinetics and exposure-response relationships for basiliximab in kidney transplantation. *Transplant*. 1999; 68: 1288–94.
25. Berrettini M, Mariani G, Schiavoni M, et al. Pharmacokinetic evaluation of recombinant, activated factor VII in patients with inherited factor VII deficiency. *Haematologica* 2001; 86(6): 640–45.
26. Krippendorff BF, Kuester K, Kloft C, Huisinga W. Nonlinear pharmacokinetics of therapeutic proteins resulting from receptor mediated endocytosis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2009; 36: 239–260.
27. Xu X, Vugmeyster Y. Challenges and Opportunities in Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Studies of Therapeutic Biologics. *The AAPS Journal* 2012; 14(4): 781–882.
28. Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Clin. Pharmacology & Therapeutics* 2008; 84(5): 548–558.
29. Insulin inhalation–Pfi zer/Nektar therapeutic: HMR 4006, inhaled PEGinsulin–Nektar, PEGylated insulin–Nektar. *Drugs R.D.* 2004; 5: 166–170.
30. Baumann A. Early Development of Therapeutic Biologics – Pharmacokinetics. *Current Drug Metabolism* 2006; 7: 15–21.
31. Fracasso PM, Burris H, Arquette MA, Govindan R, et al. A phase 1 escalating single-dose and weekly fixed-dose study of cetuximab: pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for dosing. *Clin Cancer Res*. 2007; 13: 986–993.
32. Urva SR, Balthasar JP. Target mediated disposition of T84.66, a monoclonal anti-CEA antibody: application in the detection of colorectal cancer xenografts. *MAbs*. 2010; 2: 67–72.
33. Vugmeyster Y, Szkut P, Wensel D, Ross J, et al. Complex pharmacokinetics of a recombinant antibody against human amyloid beta peptide, anti-abeta Ab2, in nonclinical species. *Pharm Res*. 2011; 28: 1696–1706.
34. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: relationships with indirect response models and application to population PK-PD analysis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2009; 36: 341–351.
35. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: approximations, identifiability of model parameters and applications to the population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of biologics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2009; 5: 803–812.
36. Kuter DJ, Rosenberg RD. The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood* 1995; 85: 2720–30.
37. Kurschner C, Ozmen L, Garotta G, et al. IFN-gamma receptor-Ig fusion proteins: Half-life, immunogenicity, and in vivo activity. *J Immunol*. 1992; 149: 4096–100.
38. Teng MN, Turksen K, Jacobs CA, et al. Prevention of runting and cachexia by a chimeric TNF receptor-Fc protein. *Clin Immunol Immunopathol*. 1993; 69: 215–222.
39. Sato TA, Widmer MB, Finkelman FD, et al. Recombinant soluble murine IL-4 receptor can inhibit or enhance IgE responses in vivo. *J Immunol*. 1993; 150: 2717–23.
40. Finkelman FD, Madden KB, Morris SC, et al. Anti-cytokine antibodies as carrier proteins. Prolongation of in vivo effects of exogenous cytokines by injection of cytokine-anti-cytokine antibody complexes. *J Immunol*. 1993; 151: 1235–44.
41. Schobitz B, Pezeshki G, Pohl T, et al. Soluble interleukin-6 (IL-6) receptor antibodies central effects of IL-6 in vivo. *Faseb J*. 1995; 9: 659–64.
42. Aderka D, Engemann H, Maor Y, et al. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med*. 1992; 175: 323–329.
43. Baumann G, Shaw MA, Amburn K. Circulating growth hormone binding proteins. *J Endocrinol Invest*. 1994; 17: 67–81.
44. Baumann G, Vance ML, Shaw MA, et al. Plasma transport of human growth hormone in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990; 71: 470–73.
45. Baumann G, Shaw MA, Brumbaugh RC, et al. Short stature and decreased serum growth hormone-binding protein in the Mountain Ok people of Papua New Guinea. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991; 72: 1346–9.
46. Svenson M, Geborek P, Saxne T, Bendtzen K. Monitoring patients treated with anti-TNF-alpha biopharmaceuticals: assessing serum infliximab and antiinfliximab antibodies. *Rheumatology* 2007; 46: 1828–34.
47. Stephens S, Emtage S, Vetterlein O, et al. Comprehensive pharmacokinetics of a humanized antibody and analysis of residual anti-idiotypic responses. *Immunology* 1995; 85: 668–74.
48. Yyer A, Homery MC, Fuseau E, et al. Pharmacokinetics and safety of roledumab, a novel human recombinant monoclonal anti-RhD antibody with an optimized Fc for improved engagement of FCcRIII, in healthy volunteers. *Vox Sanguinis* 2012; 103: 213–22.
49. Kuo TT, Baker K, Yoshida M, et al. Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J Clin Immunol*. 2010; 30: 777–89.
50. Roopenian DC, Sun VZ. Clinical ramifications of the MHC family Fc receptor FcRn. *J Clin Immunol*. 2010; 30: 790–97.
51. Ghetie V, Ward ES. Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRn. *Annu Rev Immunol*. 2000; 18: 739–66.
52. Petkova SB, Akilesh S, Sproule TJ, et al. Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease. *Int Immunol*. 2006; 18(12): 1759–69.

53. Jaggi JS, Carrasquillo JA, Seshan SV, et al. Improved tumor imaging and therapy via i.v. IgG-mediated time-sequential modulation of neonatal Fc receptor. *J Clin Invest.* 2007; 117(9): 2422–30.
54. Zhou J, Johnson JE, Ghetie V, et al. Generation of mutated variants of the human form of the MHC class I-related receptor, FcRn, with increased affinity for mouse immunoglobulin G. *J Mol Biol.* 2003; 332(4): 901–13.
55. Deng R, Loyet KM, Lien S, Iyer S, et al. Pharmacokinetics of humanized monoclonal anti-tumor necrosis factor- α antibody and its neonatal Fc receptor variants in mice and cynomolgus monkeys. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 600–05.
56. Dall'Acqua WF, Kiener PA, Wu H. Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn). *J Biol Chem.* 2006; 281: 23514–24.
57. Yeung YA, Leabman MK, Marvin JS, Qiu J, et al. Engineering human IgG1 affinity to human neonatal Fc receptor: impact of affinity improvement on pharmacokinetics in primates. *J Immunol.* 2009; 182: 7663–71.
58. Sarav M, Wang Y, Hack BK, et al. Renal FcRn Reclaims Albumin but Facilitates Elimination of IgG. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(9): 1941–52.
59. Kaneko E, Niwa R. Optimizing therapeutic antibody function: progress with Fc domain engineering. *BioDrugs* 2011; 25: 1–11.
60. Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, Shoji-Hosaka E, et al. The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Biol Chem.* 2003; 278: 3466–73.
61. Hodoniczky J, Zheng YZ, James DC. Control of recombinant monoclonal antibody effector functions by Fc N-glycan remodeling in vitro. *Biotechnol Prog.* 2005; 21: 1644–52.
62. Gregoriadis G, Fernandes A, Mital M, McCormack B. Polysialic acids: potential in improving the stability and pharmacokinetics of proteins and other therapeutics. *Cell Mol Life Sci.* 2000; 57: 1964–69.
63. Bailon P, Won CY. PEG-modified biopharmaceuticals. *Expert Opin Drug Deliv.* 2009; 6: 1–16.
64. Boswell CA, Tesar DB, Mukhyala K, Theil FP, et al. Effects of charge on antibody tissue distribution and pharmacokinetics. *Bioconjug Chem.* 2010; 21: 2153–63.
65. Schifferli JA, Taylor RP. Physiological and pathological aspects of circulating immune complexes. *Kidney Int.* 1989; 35: 993–1003.
66. Emlen W, Carl V, Burdick G. Mechanism of transfer of immune complexes from red blood cell CR1 to monocytes. *Clin Exp Immunol.* 1992; 89: 8–17.
67. Johansson A, Erlandsson A, Eriksson D, Ullén A, et al. Idiotypic-anti-idiotypic complexes and their in vivo metabolism. *Cancer* 2002; 94: 1306–13.
68. Kosugi I, Muro H, Shirasawa H, Ito I. Endocytosis of soluble IgG immune complex and its transport to lysosomes in hepatic sinusoidal endothelial cells. *J Hepatol.* 1992; 16: 106–14.
69. Pastuskovas CV, Mallet W, Clark S, Kenrick M, et al. Effect of immune complex formation on the distribution of a novel antibody to the ovarian tumor antigen CA125. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 2309–19.
70. Tabrizi MT, Tseng CML, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today* 2006; 11: 81–88.
71. Pollock C, Johnson DW, Hrgl WH, Rossert J, et al. Pure red cell aplasia induced by erythropoiesis-stimulating agents. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 193–99.
72. Rossert J. Erythropoietin-induced, antibody-mediated pure red cell aplasia. *Eur J Clin Invest.* 2005; 35(Suppl 3): 95–99.
73. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia* 2003; 9: 418–35.
74. Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, № 814.
75. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (CHMP/EWP/89249/2004).
76. Vugmeyster Y, Szklut P, Wensel D, Ross J, Xu X, Awwad M, Gill D, Tchistiakov L, Warner G. Complex pharmacokinetics of a humanized antibody against human amyloid beta peptide, anti- β Ab2, in nonclinical species. *Pharm Res.* 2011; 28: 1696–1706.
77. Bumbaca D, Wong A, Drake E, Reyes AE, Lin BC, et al. Highly specific offtarget binding identified and eliminated during the humanization of an antibody against FGF receptor 4. *MAbs.* 2011; 3: 376–86.
78. Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/144533/2009.
79. Guideline on clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor IX products. EMA/CHMP/BPWP/144552/2009.
80. Guideline on comparability of biotechnology-derived medicinal products after a change in the manufacturing process. Non-clinical and clinical issues. EMEA/CHMP/BMWP/101695/2006.
81. Similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. EMEA/CHMP/BMWP/42832/2005.
82. Heinemann L, Hompesch M. Biosimilar Insulins: How Similar is Similar? *Journal of Diabetes Science and Technology* 2011; 5(3): 741–55.
4. Keizer RJ, Huitema AD, Schellens JH, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet.* 2010; 49: 493–507.
5. Gibson CR, Sandu P, Hanley WD. Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. In: An Z, editor. *Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics, in Therapeutic monoclonal antibodies: From bench to clinic.* Hoboken, New Jersey: John Wiley & Son Inc.; 2009.
6. McDonald TA, Zepeda ML, Tomlinson MJ, Bee WH, Ivens IA. Subcutaneous administration of biotherapeutics: current experience in animal models. *Curr Opin Mol Ther.* 2010; 12: 461–470.
7. Beshyah SA, Anyaoku V, Nithyananthan R, Sharp P, Johnston DG. The effect of subcutaneous injection site on absorption of human growth hormone: abdomen versus thigh. *Clin Endocrinol.* 1991; 35: 409–412.
8. Kagan L, Gershkovich P, Mendelman A, Amsili S, Ezov N, Hoffman A. The role of the lymphatic system in subcutaneous absorption of macromolecules in the rat model. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 67: 759–765.
9. Kagan L, Turner MR, Balu-Iyer SV, Mager DE. Subcutaneous absorption of monoclonal antibodies: role of dose, site of injection, and injection volume on rituximab pharmacokinetics in rats. *Pharm Res.* 2012; 29: 490–499.
10. Lin JH. Pharmacokinetics of biotech drugs: peptides, proteins and monoclonal antibodies. *Curr Drug Metab.* 2009; 10: 661–691.
11. Xiao JJ. Pharmacokinetic Models for FcRn-Mediated IgG Disposition. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2012; 2: 1–13.
12. Kurzrock R, Rosenblum MG, Sherwin SA, et al. Pharmacokinetics, single-dose tolerance, and biological activity of recombinant gamma-interferon in cancer patients. *Cancer Res.* 1985; 45: 2866–2872.
13. Radwanski E, Perentesis G, Jacobs S, et al. Pharmacokinetics of interferon α -2b in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 1987; 27: 432–435.
14. McLennan DN, Christopher JH, Porter E, et al. Lymphatic absorption is the primary contributor to the systemic availability of epoetin alfa following subcutaneous administration to sheep. *J Pharmacol Experim Therapeut.* 2004; 313: 345–351.
15. Vugmeyster Y, DeFranco D, Szklut P, Wang Q, Xu X. Biodistribution of [125I]-labeled therapeutic proteins: application in protein drug development beyond oncology. *J Pharm Sci.* 2010; 99: 1028–1045.
16. Dong JQ, Salinger DH, Endres CJ, Gibbs JP, et al. Quantitative prediction of human pharmacokinetics for monoclonal antibodies: retrospective analysis of monkey as a single species for first-in-human prediction. *Clin Pharmacokinet.* 2011; 50: 131–142.
17. Kagan L, Turner MR, Balu-Iyer SV, Mager DE. Subcutaneous absorption of monoclonal antibodies: role of dose, site of injection, and injection volume on rituximab pharmacokinetics in rats. *Pharm Res.* 2012; 29: 490–499.
18. Zapf J, Hauri C, Waldvogel M, et al. Acute metabolic effects and half-lives of intravenously administered insulinlike growth factors I and II in normal and hypophysectomized rats. *J Clin Invest.* 1986; 77: 1768–1775.
19. Charman SA, Segrave AM, Edwards GA, Porter CJ. Systemic availability and lymphatic transport of human growth hormone administered by subcutaneous injection. *J Pharm Sci.* 2000; 89: 168–177.
20. Richter WF, Bhansali SG, Morris ME. Mechanistic Determinants of Biotherapeutics Absorption Following SC Administration. *The AAPS Journal*, 2012; 14(3): 559–570.
21. Bocci V, Muscettola M, Grasso G, Magyar Z, et al. The lymphatic route. 1) Albumin and hyaluronidase modify the normal distribution of interferon in lymph and plasma. *Experientia* 1986; 42: 432–433.
22. Mannucci PM, Kempton C, Millar C, Romond E, et al. Pharmacokinetics and safety of a novel recombinant human von Willebrand factor manufactured with a plasma-free method: a prospective clinical trial. *Blood* 2013; 122(5): 648–657.
23. Agero H, Laesen LS, Riis A, et al. Pharmacokinetics and renal excretion of desmopressin after intravenous administration to healthy subjects and renally impaired patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2004; 58: 352–358.
24. Kovarki JM, Kahan BD, Rajagopalan PR, et al. Population pharmacokinetics and exposure-response relationships for basiliximab in kidney transplantation. *Transplant.* 1999; 68: 1288–94.
25. Berrettini M, Mariani G, Schiavoni M, et al. Pharmacokinetic evaluation of recombinant, activated factor VII in patients with inherited factor VII deficiency. *Haematologica* 2001; 86(6): 640–45.
26. Krippendorff BF, Kuester K, Kloft C, Huisinga W. Nonlinear pharmacokinetics of therapeutic proteins resulting from receptor mediated endocytosis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2009; 36: 239–260.
27. Xu X, Vugmeyster Y. Challenges and Opportunities in Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Studies of Therapeutic Biologics. *The AAPS Journal* 2012; 14(4): 781–882.
28. Wang W, Wang EQ, Balthasar JP. Monoclonal Antibody Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Clin. Pharmacology & Therapeutics* 2008; 84(5): 548–558.
29. Insulin inhalation—Pfi zer/Nektar therapeutic: HMR 4006, inhaled PEGinsulin-Nektar, PEGylated insulin-Nektar. *Drugs R.D.* 2004; 5: 166–170.
30. Baumann A. Early Development of Therapeutic Biologics—Pharmacokinetics. *Current Drug Metabolism* 2006; 7: 15–21.
31. Fracasso PM, Burris H, Arquette MA, Govindan R, et al. A phase 1 escalating single-dose and weekly fixed-dose study of cetuximab: pharmacokinetic and pharmacodynamic rationale for dosing. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 986–993.
32. Urva SR, Balthasar JP. Target mediated disposition of T84.66, a monoclonal anti-CEA antibody: application in the detection of colorectal cancer xenografts. *MAbs.* 2010; 2: 67–72.
33. Vugmeyster Y, Szklut P, Wensel D, Ross J, et al. Complex pharmacokinetics of a humanized antibody against human amyloid beta peptide, anti- β Ab2, in nonclinical species. *Pharm Res.* 2011; 28: 1696–1706.
34. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: relationships with indirect response models and application to population PK-PD analysis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2009; 36: 341–351.

References

1. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Biotech Drugs: Principles and Case Studies in Drug Development.* Edited by Bernd Meibohm. WILEY-VCH Verlag GmbH. 2006.
2. Mould DR, Sweeney KR. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies – mechanistic modeling applied to drug development. *Current Opinion in Drug Discovery & Development* 2007; 10(1): 84–96.
3. Baumann A. Early Development of Therapeutic Biologics – Pharmacokinetics. *Current Drug Metabolism* 2006; 7: 15–21.

35. Gibiansky L, Gibiansky E. Target-mediated drug disposition model: approximations, identifiability of model parameters and applications to the population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of biologics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2009; 5: 803–812.
36. Kuter DJ, Rosenberg RD. The reciprocal relationship of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to changes in the platelet mass during busulfan-induced thrombocytopenia in the rabbit. *Blood* 1995; 85: 2720–30.
37. Kurschner C, Ozmen L, Garotta G, et al. IFN-gamma receptor-Ig fusion proteins: Half-life, immunogenicity, and in vivo activity. *J Immunol.* 1992; 149: 4096–100.
38. Teng MN, Turksen K, Jacobs CA, et al. Prevention of runting and cachexia by a chimeric TNF receptor-Fc protein. *Clin Immunol Immunopathol.* 1993; 69: 215–222.
39. Sato TA, Widmer MB, Finkelman FD, et al. Recombinant soluble murine IL-4 receptor can inhibit or enhance IgE responses in vivo. *J Immunol.* 1993; 150: 2717–23.
40. Finkelman FD, Madden KB, Morris SC, et al. Anti-cytokine antibodies as carrier proteins. Prolongation of in vivo effects of exogenous cytokines by injection of cytokine-anti-cytokine antibody complexes. *J Immunol.* 1993; 151: 1235–44.
41. Schobitz B, Pezeshki G, Pohl T, et al. Soluble interleukin-6 (IL-6) receptor augments central effects of IL-6 in vivo. *Faseb J.* 1995; 9: 659–64.
42. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, et al. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med.* 1992; 175: 323–329.
43. Baumann G, Shaw MA, Amburn K. Circulating growth hormone binding proteins. *J Endocrinol Invest.* 1994; 17: 67–81.
44. Baumann G, Vance ML, Shaw MA, et al. Plasma transport of human growth hormone in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 71: 470–73.
45. Baumann G, Shaw MA, Brumbaugh RC, et al. Short stature and decreased serum growth hormone-binding protein in the Mountain Ok people of Papua New Guinea. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 72: 1346–9.
46. Svenson M, Geborek P, Saxne T, Bendtzen K. Monitoring patients treated with anti-TNF- α biopharmaceuticals: assessing serum infliximab and antiinfliximab antibodies. *Rheumatology* 2007; 46: 1828–34.
47. Stephens S, Emtage S, Vetterlein O, et al. Comprehensive pharmacokinetics of a humanized antibody and analysis of residual anti-idiotypic responses. *Immunology* 1995; 85: 668–74.
48. Yver A, Homery MC, Fuseau E, et al. Pharmacokinetics and safety of roledumab, a novel human recombinant monoclonal anti-RhD antibody with an optimized Fc for improved engagement of Fc γ RIII, in healthy volunteers. *Vox Sanguinis* 2012; 103: 213–22.
49. Kuo TT, Baker K, Yoshida M, et al. Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics. *J Clin Immunol.* 2010; 30: 777–89.
50. Roopenian DC, Sun VZ. Clinical ramifications of the MHC family Fc receptor FcRn. *J Clin Immunol.* 2010; 30: 790–97.
51. Ghetie V, Ward ES. Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRn. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18: 739–66.
52. Petkova SB, Akilesh S, Sprule TJ, et al. Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease. *Int Immunol.* 2006; 18(12): 1759–69.
53. Jaggi JS, Carrasquillo JA, Seshan SV, et al. Improved tumor imaging and therapy via i.v. IgG-mediated time-sequential modulation of neonatal Fc receptor. *J Clin Invest.* 2007; 117(9): 2422–30.
54. Zhou J, Johnson JE, Ghetie V, et al. Generation of mutated variants of the human form of the MHC class I-related receptor, FcRn, with increased affinity for mouse immunoglobulin G. *J Mol Biol.* 2003; 332(4): 901–13.
55. Deng R, Loyet KM, Lien S, Iyer S, et al. Pharmacokinetics of humanized monoclonal anti-tumor necrosis factor- α antibody and its neonatal Fc receptor variants in mice and cynomolgus monkeys. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 600–05.
56. Dall'Acqua WF, Kiener PA, Wu H. Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn). *J Biol Chem.* 2006; 281: 23514–24.
57. Yeung YA, Leabman MK, Marvin JS, Qiu J, et al. Engineering human IgG1 affinity to human neonatal Fc receptor: impact of affinity improvement on pharmacokinetics in primates. *J Immunol.* 2009; 182: 7663–71.
58. Sarav M, Wang Y, Hack BK, et al. Renal FcRn Reclaims Albumin but Facilitates Elimination of IgG. *J Am Soc Nephrol.* 2009; 20(9): 1941–52.
59. Kaneko E, Niwa R. Optimizing therapeutic antibody function: progress with Fc domain engineering. *BioDrugs* 2011; 25: 1–11.
60. Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, Shoji-Hosaka E, et al. The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J Biol Chem.* 2003; 278: 3466–73.
61. Hodoniczky J, Zheng YZ, James DC. Control of recombinant monoclonal antibody effector functions by Fc N-glycan remodeling in vitro. *Biotechnol Prog.* 2005; 21: 1644–52.
62. Gregoriadis G, Fernandes A, Mital M, McCormack B. Polysialic acids: potential in improving the stability and pharmacokinetics of proteins and other therapeutics. *Cell Mol Life Sci.* 2000; 57: 1964–69.
63. Bailon P, Won CY. PEG-modified biopharmaceuticals. *Expert Opin Drug Deliv.* 2009; 6: 1–16.
64. Boswell CA, Tesar DB, Mukhyala K, Theil FP, et al. Effects of charge on antibody tissue distribution and pharmacokinetics. *Bioconjug Chem.* 2010; 21: 2153–63.
65. Schifferli JA, Taylor RP. Physiological and pathological aspects of circulating immune complexes. *Kidney Int.* 1989; 35: 993–1003.
66. Emlen W, Carl V, Burdick G. Mechanism of transfer of immune complexes from red blood cell CR1 to monocytes. *Clin Exp Immunol.* 1992; 89: 8–17.
67. Johansson A, Erlandsson A, Eriksson D, Ullén A, et al. Idiotypic-anti-idiotypic complexes and their in vivo metabolism. *Cancer* 2002; 94: 1306–13.
68. Kosugi I, Muro H, Shirasawa H, Ito I. Endocytosis of soluble IgG immune complex and its transport to lysosomes in hepatic sinusoidal endothelial cells. *J Hepatol.* 1992; 16: 106–14.
69. Pastuskovas CV, Mallet W, Clark S, Kenrick M, et al. Effect of immune complex formation on the distribution of a novel antibody to the ovarian tumor antigen CA125. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 2309–19.
70. Tabrizi MT, Tseng CML, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today* 2006; 11: 81–88.
71. Pollock C, Johnson DW, Hörl WH, Rossert J, et al. Pure red cell aplasia induced by erythropoiesis-stimulating agents. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 193–99.
72. Rossert J. Erythropoietin-induced, antibody-mediated pure red cell aplasia. *Eur J Clin Invest.* 2005; 35(Suppl 3): 95–99.
73. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia* 2003; 9: 418–35.
74. Guidelines on the quality, safety, and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Replacement of Annex 3 of WHO Technical Report Series, № 814.
75. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (CHMP/EWP/89249/2004).
76. Vugmeyster Y, Szklut P, Wensel D, Ross J, Xu X, Awwad M, Gill D, Tchistiakov L, Warner G. Complex pharmacokinetics of a humanized antibody against human amyloid beta peptide, anti- β Ab2, in nonclinical species. *Pharm Res.* 2011; 28: 1696–1706.
77. Bumbaca D, Wong A, Drake E, Reyes AE, Lin BC, et al. Highly specific off-target binding identified and eliminated during the humanization of an antibody against FGF receptor 4. *Mabs.* 2011; 3: 376–86.
78. Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor VIII products. EMA/CHMP/BPWP/144533/2009.
79. Guideline on clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor IX products. EMA/CHMP/BPWP/144552/2009.
80. Guideline on comparability of biotechnology-derived medicinal products after a change in the manufacturing process. Non-clinical and clinical issues. EMA/CHMP/BMW/101695/2006.
81. Similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. EMA/CHMP/BMW/42832/2005.
82. Heinemann L, Hompesch M. Biosimilar Insulins: How Similar is Similar? *Journal of Diabetes Science and Technology* 2011; 5(3): 741–55.

Authors:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre on Expert Evaluation of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Soldatov AA. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences.

Avdeeva ZhI. Chief expert of Office of expertise allergens, cytokines and other immunomodulators of Center for examination and control of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Alpatova NA. Chief expert of Laboratory of immunology of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Medunitsyn NV. Department Director. Doctor of Medical Sciences, professor, academician of RAS.

Lysikova SL. 1st category expert of Laboratory of immunology of Test Center of Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Medical Sciences.

Merkulov VA. First Deputy Director General. Doctor of Medical Sciences, professor.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Солдатов Александр Алексеевич. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук.

Авдеева Жанна Ильдаровна. Главный эксперт Управления экспертизы аллергенов, цитокинов и других иммуномодуляторов Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Алпатова Наталья Александровна. Главный эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Медуницын Николай Васильевич. Руководитель научного направления, д-р мед. наук, профессор, академик РАН.

Лысыкова Светлана Леонидовна. Эксперт 1 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Меркулов Вадим Анатольевич. Первый заместитель генерального директора, д-р мед. наук, профессор.

Адрес для переписки: Солдатов Александр Алексеевич; Soldatov@exrmed.ru

Поступила 23.12.2014 г.
Принята 20.05.2015 г.