

Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности

О. А. Безбородова^{1,*}, А. А. Панкратов¹, Е. Р. Немцова¹, Ю. Б. Венедиктова¹,
М. С. Воронцова¹, Г. Н. Енгальчева², Р. Д. Сюбаев²

¹Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П. А. Герцена — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2-й Боткинский проезд, д. 3, Москва, 125284, Российская Федерация

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

Резюме. Расшифровка структуры ДНК и разработка новых молекулярных методов ее анализа, идентификация специфических геномных изменений, ответственных за неопластическую трансформацию, стали поворотными моментами в разработке инновационных лекарственных средств — таргетных противоопухолевых агентов, направленных на молекулярные и генетические мишени опухолевого роста. Переход от эмпирического скрининга агентов, механизм действия которых основан на ингибировании пролиферации опухолевых клеток, к молекулярно-нацеленным методам анализа привел к возникновению ряда важных методологических вопросов, связанных с доклинической разработкой инновационных лекарственных средств. Цель работы — анализ общих принципов и особенностей доклинических исследований эффективности и безопасности современных противоопухолевых препаратов различных классов для усовершенствования существующих национальных методических рекомендаций. В работе рассмотрены вопросы доклинических исследований различных классов противоопухолевых лекарственных средств (синтетических химиотерапевтических препаратов, гормонов и антагонистов гормонов, препаратов алкилирующего действия, антиметаболитов, препаратов микробного и растительного происхождения, а также моноклональных антител). Приведены общие принципы изучения их фармакологической активности в системах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, определения фармакокинетических параметров, описаны используемые методы и модели исследований. Указаны особенности определения генотоксичности, канцерогенности, репродуктивной токсичности, мутагенности, острой и хронической токсичности препаратов разных групп, перечислены критерии выбора доз для токсикокинетических исследований. Необходимость гармонизации национальных требований к проведению доклинических исследований с европейскими нормами влечет за собой унификацию терминологии и дальнейшую разработку общих алгоритмов выбора доз и определения необходимых объемов исследования. Использование биомаркеров в доклинических исследованиях позволит исключить дальнейшие исследования неэффективных соединений.

Ключевые слова: противоопухолевые лекарственные препараты; цитотоксические препараты; таргетные препараты; доклинические исследования; эффективность и безопасность

Для цитирования: Безбородова ОА, Панкратов АА, Немцова ЕР, Венедиктова ЮБ, Воронцова МС, Енгальчева ГН, Сюбаев РД. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2020;10(2):96–110. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110>

***Контактное лицо:** Безбородова Ольга Алексеевна; olgabezborodova@yandex.ru

Anti-Tumour Drugs: Planning Preclinical Efficacy and Safety Studies

О. А. Bezborodova^{1,*}, А. А. Pankratov¹, Е. Р. Nemtsova¹, Yu. B. Venediktova¹,
M. S. Vorontsova¹, G. N. Engalycheva², R. D. Syubaev²

¹Р.А. Hertsen Moscow Oncology Research Centre, Branch of the National Medical Radiology Research Centre, 3 2nd Botkinsky Drive, Moscow 125284, Russian Federation

²Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Abstract. The decoding of the DNA structure and development of new molecular methods of its analysis, as well as identification of specific genomic changes responsible for malignant transformation, have become the turning points in elaboration of novel anti-tumour drugs directed against molecular and genetic targets of tumor growth. Transition from empirical screening of agents inhibiting tumour cell proliferation to molecule-targeted analytical methods has raised a number of serious methodological issues regarding preclinical evaluation of novel medicines. The objective of this paper was to analyse general principles and features of preclinical efficacy and safety studies of different classes of modern anti-tumour drugs with a view to improve existing national

guidelines. The paper reviews various aspects of preclinical studies of different classes of anti-tumour drugs (small molecule chemotherapy drugs, hormones and hormone antagonists, alkylating agents and antimetabolites, microbial and herbal medicines, as well as monoclonal antibodies). The article explores general principles of studying the drugs' pharmacological activity *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo*, and evaluating their pharmacokinetic parameters. It describes various methods and models of research, summarises specific aspects of determination of genotoxicity, carcinogenicity, reproductive toxicity, mutagenicity, acute and chronic toxicity of various groups of medicines. It also lists criteria for selecting drug doses for toxicokinetic studies. The need for harmonisation of national requirements for conducting preclinical studies with the European standards entails alignment of terminology and further development of general algorithms for selecting doses and determining the necessary scope of research. The use of biomarkers in preclinical studies will make it possible to exclude inefficient compounds from further research.

Key words: anti-tumour drugs; cytostatics; targeted drugs; preclinical studies; efficacy and safety

For citation: Bezborodova OA, Pankratov AA, Nemtsova ER, Venediktova YuB, Vorontsova MS, Engalycheva GN, Syubaev RD. Anti-tumour drugs: planning preclinical efficacy and safety studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2020;10(2):96–110. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110>

*Corresponding author: Olga A. Bezborodova; olgabezborodova@yandex.ru

Лекарственная терапия является одним из основных методов лечения больных со злокачественными новообразованиями и нередко применяется в комплексе с облучением и хирургическим лечением. При гемобластозах и диссеминированных формах солидных опухолей лекарственное воздействие является основным методом лечения [1].

История развития лекарственной терапии опухолей началась в 40-е годы XX века, когда случайно было обнаружено первое ДНК-алкилирующее вещество — азотистый иприт, который использовали в военных целях. Позже ученые подтвердили фармакологическое действие этого соединения, были опубликованы первые результаты клинических исследований [2] официально признанных химиотерапевтических препаратов.

Эти достижения инициировали поиск других синтетических и природных веществ, обладающих противоопухолевым действием, а также инструментов для их тестирования. В начале 1960-х годов в США на базе Национального института рака были разработаны первые подходы к изучению противоопухолевых лекарственных средств. Позднее международная конференция по скринингу противоопухолевых препаратов (1974 г.) выработала методологию изучения новых фармакологических веществ, способных вызывать гибель клеток. Главным образом, это были агенты, механизм действия которых основан на ингибировании пролиферации опухолевых клеток путем нарушения целостности молекул ДНК или блокирования процессов транскрипции и митоза.

В середине 1980-х годов, благодаря новым открытиям в области клеточной и молекулярной биологии, позволяющим идентифицировать молекулярные мишени и механизмы злокачественного роста, которые возможно заблокировать специфическими агентами [3], произошла смена парадигмы разработки противоопухолевых препаратов. Расшифровка структуры ДНК и разработка новых мо-

лекулярных методов ее анализа, идентификация специфических геномных изменений, ответственных за неопластическую трансформацию клеток, стали поворотными моментами в разработке инновационных лекарственных средств — таргетных противоопухолевых препаратов, направленных на молекулярные и генетические мишени опухолевого роста (биомаркеры) [4]. Были разработаны новые иммунотерапевтические подходы к лечению больных злокачественными заболеваниями с использованием моноклональных антител [5, 6]. В 2010 г. произошли значимые изменения, связанные с введением в клиническую практику препаратов — ингибиторов контрольных точек иммунитета, которые показали высокую эффективность в отношении местнораспространенных и метастатических опухолей.

Внедрение таргетных препаратов в онкологическую практику привело к повышению эффективности лечения меланомы, немелкоклеточного рака легкого и ряда других злокачественных опухолей. Однако результаты большинства клинических исследований свидетельствуют либо об ограниченной эффективности лекарственных средств данной группы, либо о высокой отсроченной токсичности [6].

Причиной этого может быть не только отсутствие оптимального отбора больных с учетом молекулярных маркеров чувствительности и/или резистентности в результате мутаций или генетического полиморфизма опухоли, но и методологические недостатки в дизайне доклинических исследований еще на ранних этапах разработки препарата.

Проблемы в области доклинических исследований в Российской Федерации обусловлены тем, что существующие национальные Руководства по проведению доклинических исследований¹ не учитывают инновационный характер современных противоопухолевых препаратов и не отражают научно обоснованную методологию их изучения.

¹ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012.

Хабриев РУ, ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.

Таким образом, существует необходимость пересмотра подходов к планированию и проведению доклинических исследований лекарственных средств нового поколения с учетом принятых международных подходов, которые отражены в Руководствах Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH)².

Цель работы — анализ общих принципов и особенностей доклинических исследований эффективности и безопасности современных противоопухолевых препаратов различных классов для усовершенствования существующих национальных методических рекомендаций.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Существующие в настоящее время классификации противоопухолевых лекарственных средств носят условный характер, поскольку многие препараты, объединяемые в одну группу, имеют свой уникальный механизм действия и эффективны в отношении совершенно разных нозологических форм злокачественных новообразований, тем не менее эти классификации представляют определенный практический интерес.

Спектр противоопухолевых препаратов широк [7] и включает препараты алкилирующего действия, аналоги антиметаболитов, препараты природного и растительного происхождения и их синтетические аналоги, гормоны и антагонисты гормонов, а также таргетные препараты.

Препараты алкилирующего действия [8] составляют наиболее обширную группу противоопухолевых препаратов на основе синтетических соединений, включая производные нитрозомочевины и комплексные соединения платины, механизм действия которых основан на ингибировании пролиферации опухолевых клеток путем нарушения целостности молекул ДНК или блокирования процессов транскрипции и митоза.

Противоопухолевая активность **антиметаболитов** (структурных аналогов фолиевой кислоты, пурина, пиримидина) основана на структурном или функциональном подобии (имитации) их метаболитам, участвующим в синтезе нуклеиновых кислот [9–12].

Среди противоопухолевых **препаратов природного происхождения** выделяют противоопухолевые антибиотики (продукты жизнедеятельности микроорганизмов, различных видов почвенных грибов или их синтетические производные) и вещества растительного происхождения.

Скрининг продуктов жизнедеятельности микроорганизмов привел к открытию целого ряда препаратов антрациклинового ряда, механизм действия которых основан на ингибировании синтеза нуклеиновых кислот путем интеркаляции между парами азотистых оснований, нарушении вторичной спирализации ДНК за счет взаимодействия с топоизомеразой II и связывании с липидами клеточных мембран [13].

Большой класс противоопухолевых препаратов составляют **вещества растительного происхождения**. По механизму действия их разделяют на препараты, которые воздействуют на микротрубочки митотического аппарата клетки (винкалкалоиды и таксаны), и на ингибиторы топоизомеразы I (камптотецины) и топоизомеразы II (подофиллотоксины) [14].

Особый класс препаратов, используемых в терапии гормонозависимых опухолей, — **противоопухолевые гормональные средства и антагонисты гормонов**, — включает ряд стероидных гормонов и их синтетических производных, нестероидных синтетических соединений со стероидным и стероид-антагонистическим действием, аналоги рилизинг-гормона лютеинизирующего гормона гипофиза, а также тиреоидные гормоны, аналоги соматостатина и другие.

Механизм действия препаратов этой группы связан как с их способностью изменять гормональные соотношения в организме, так и с возможностью непосредственно влиять на опухолевые клетки. Наличие специфических рецепторов гормонов в опухолевых клетках лежит в основе их чувствительности к препаратам этой группы. Действие антагонистов гормонов определяется их конкуренцией с соответствующими гормонами на уровне клеточных рецепторов.

Достижения в понимании ключевых клеточных сигнальных путей и генетических факторов, приводящих к возникновению злокачественных опухолей, обусловили исследования и разработку **таргетных препаратов**, способных блокировать рост и прогрессирование опухоли путем взаимодействия со специфичными молекулами, вовлеченными в процесс канцерогенеза (табл. 1 и 2, содержащие описание лекарственных средств, используемых в онкологической практике в мире³, опубликованы на сайте журнала⁴).

² ICH M3(R2). Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.

ICH S6(R1). Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.

ICH S9. Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

ICH S9 Q&A. Questions and answers: nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

³ <https://ema.europa.eu/ema>

<https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/resources-information-approved-drugs>

<https://antibodysociety.org>

⁴ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110-tab1>

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110-tab2>

Действие таргетного агента реализуется через его связь с определенной молекулярной мишенью (белком), который участвует в росте, инвазии и/или метастазировании опухоли. Механизм основан либо на ингибировании белка, который является ключевым для функционирования опухолевой клетки, либо на блокировании процесса связывания белка с рецептором для предотвращения его активации [6]. По этому принципу действия выделяют три группы таргетных препаратов, которые могут быть нацелены на функцию дефектной молекулы, на пути передачи сигнала в опухолевой клетке или на уникальный фенотип опухолевой клетки.

Таргетные лекарственные средства представлены селективными ингибиторами тирозинкиназ и цитоплазматическими ингибиторами серин/треонинкиназ [15]. Мишенями являются факторы роста, сигнальные молекулы, белки клеточного цикла, модуляторы апоптоза и сигнальные молекулы, активирующие ангиогенез.

По происхождению таргетные препараты могут являться продуктами биотехнологического синтеза (моноклональные антитела [16], фрагменты антител, слитые белки) или продуктами химического синтеза (малые синтетические молекулы).

Первым разрешенным для медицинского применения таргетным препаратом на основе **моноклональных антител** (МкАТ) является ритуксимаб — химерное МкАТ мышь/человек, которое связывается специфично с рецептором CD20 на поверхности пре-В-клеток и зрелых В-лимфоцитов, экспрессирующимся более чем в 95% В-клеточных неходжкинских лимфом [17, 18]. Тозитумомаб — мышшиное λ -МкАТ антитело IgG2a класса, направленное на рецептор CD-20, конъюгированное с йодом 131 (I131-тозитумомаб), применяется в терапии резистентных к ритуксимабу неходжкинских лимфом [19].

Трастузумаб — гуманизированное МкАТ, полученное с помощью генно-инженерных технологий, способно ингибировать активацию рецептора-2 к эпидермальному фактору роста человека (human epidermal growth factor *receptor* 2, HER2). Применение его является золотым стандартом в комплексном лечении больных ранним HER2-позитивным раком молочной железы и HER2-позитивным раком желудка [20].

Рецептор HER-2/neu является объектом для воздействия гуманизированного МкАТ — пертузумаба, который назначают в сочетании с трастузумабом и доцетакселом в адъювантном и неoadъювантном режимах [21].

Цетуксимаб — химерное МкАТ (мышшь/человек), направленное на рецептор эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR). Механизм действия основан на ингибировании сигнального пути EGFR, приводящего к блокиро-

ванию клеточного цикла, ингибированию ангиогенеза, инвазии и метастазирования [22].

Панитумумаб — человеческое МкАТ IgG2 класса, полученное путем рекомбинантной ДНК-технологии и направленное на EGFR [23].

Отдельная категория таргетных препаратов опосредованно воздействует на опухолевый рост, в частности, путем блокирования факторов, стимулирующих рост сосудов (бевацизумаб). В отличие от описанных выше МкАТ, этот препарат направлен не на внеклеточный рецептор, ответственный за активацию различных молекулярных путей, а на растворимый фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A), то есть является антиангиогенным лекарственным средством [24].

Новый класс противоопухолевых лекарственных средств представляют собой препараты на основе конъюгатов антител с цитостатиками [25–28]. В этой комбинации МкАТ селективно доставляет лечебный агент к опухолевым клеткам, экспрессирующим антиген, а цитотоксическое соединение вызывает их избирательную гибель.

Таргетные препараты могут быть представлены **малыми синтетическими молекулами**, являющимися продуктами химического синтеза, которые проникают через клеточную мембрану и взаимодействуют с мишенями внутри клетки или влияют на ферментативную активность целевого белка.

Иматиниб является препаратом первого поколения ингибиторов BCR-ABL-тирозинкиназы — аномального фермента, ответственного за онкогенную трансформацию клеток и ассоциированного с хроническим миелолейкозом. В настоящее время разработаны ингибиторы BCR-ABL нового поколения (дазатиниб, нилотиниб, бозутиниб, понатиниб), предназначенные для лечения больных, резистентных к иматинибу. Эта резистентность, по мнению авторов, обусловлена большим мутагенным потенциалом BCR-ABL-киназы [29].

К малым молекулам относятся препараты гефитиниб и эрлотиниб — ингибиторы тирозинкиназы EGFR, которые способны ингибировать аномальную активацию реакций каскада митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase, MAPK), сигнального пути фосфатидилинозитол-3-киназы и протеинкиназы В (phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) [30].

Специфический ингибитор HER2 — лапатиниб способен взаимодействовать с АТФ-связывающим сайтом внутриклеточного домена рецептора HER2, что приводит к ингибированию роста опухолевых клеток [31].

Сорафениб и сунитиниб — представители класса таргетных малых молекул, способные подавлять как внутриклеточные киназы, так и расположенные на поверхности клеток рецепторные

тирозинкиназы, среди которых рецепторы фактора роста эндотелия сосудов VEGF-1,2,3, тромбоцитарного фактора роста (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR), а также рецепторы фактора стволовых клеток KIT и Fms-подобной тирозинкиназы-3 (Fms-like tyrosine kinase-3, FLT3) [32].

Темсиролиму и эверолиму являются избирательными ингибиторами mTOR-киназы (mammalian target of rapamycin), относящейся к категории серин/треониновых протеинкиназ. Серин/треониновая киназа играет значимую роль в регуляции экспрессии генов, ответственных за синтез циклинов, которые участвуют в клеточном цикле от фазы G1 (пресинтетическая) до фазы S (синтез) клеточного цикла [33].

К ингибиторам митоген-активированной протеинкиназы относятся вемурафениб и дабрафениб — селективные ингибиторы BRAF, члена семейства RAF серин/треонинкиназы. Ген *BRAF* кодирует протоонкоген B-Raf, участвующий в функционировании высокоонкогенного MAPK-сигнального пути, мутации которого идентифицированы приблизительно в 7% всех злокачественных опухолей.

Траметиниб и кобиметиниб также относятся к ингибиторам митоген-активируемой MEK-киназы (MAPK-extracellular regulated kinase) [34, 35].

Среди таргетных препаратов выделяют группу лекарственных средств ингибиторов протеасом. Протеасомы — мультисубъединичные протеазы, осуществляющие деградацию около 80% клеточных белков, участвующих в самых разных процессах: пролиферации, апоптозе, дифференцировке, метаболических и сигнальных путях. Их активность повышена практически во всех злокачественных опухолях человека. Бортезомиб — препарат первого поколения, который обратимо ингибирует активность протеасомы 26S, карфилзомиб — ингибитор протеасомы 20S второго поколения, способный необратимо ингибировать химотрипсин-подобную активность протеасомы, и иксазомиб, который применяется с леналидомидом (ингибитором секреции провоспалительных цитокинов) и дексаметазоном у больных рецидивирующей и/или резистентной множественной миеломой [36].

Иммунотерапия — быстро развивающийся метод лечения больных со злокачественными новообразованиями, направленный на стимуляцию иммунных реакций организма для распознавания и уничтожения опухолевых клеток. Эффективный иммунный ответ осуществляется главным образом Т-лимфоцитами и основан на каскаде процессов — цикле противоопухолевого иммунного ответа [37]. Однако известно, что опухолевые клетки используют различные механизмы уклонения от иммунного ответа, и один из них — иммунные контрольные точки (ИКТ) — семейство ингибирующих и активирующих рецепторов и их лигандов, модуляция ко-

торых стала основой современной иммунотерапии опухолей. Наиболее изученными ИКТ являются рецептор запрограммированной клеточной смерти (programmed cell death 1, PD-1) и антиген, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 immunoglobulin, CTLA4), которые экспрессируются преимущественно Т-лимфоцитами.

Внедрение в клиническую практику **таргетных иммунопрепаратов на основе MкAT** с разными точками воздействия — PD-1/PD-L1 (рецептор PD-1/лиганд PD-L1) и CTLA4 — является значимым событием, которое привело к повышению эффективности и более благоприятному исходу в терапии злокачественных новообразований различного гистогенеза [38–40].

Фундаментальные исследования в области молекулярной генетики, современный уровень развития генной инженерии сделали возможным появление принципиально нового класса противоопухолевых лекарственных средств — **генных препаратов**, которые будут рассмотрены в последующих публикациях.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Изменение направления разработки противоопухолевых лекарственных средств в сторону селективных препаратов меняет классическую модель скрининга новых молекул на мишень-ориентированную модель с четким обоснованием механизма действия.

Сложность структур и разнообразие фармакологических свойств инновационных молекул-кандидатов в лекарственные средства диктует необходимость применения при их изучении релевантных тест-систем и предикторных моделей *in vitro* и *in vivo* для адекватной интерпретации результатов доклинических исследований и трансляции их в клиническую практику.

Эти обстоятельства являются причинами пересмотра методологии изучения и подходов к оценке эффективности ряда фармакологических веществ, среди которых могут быть не описанные ранее химические структуры — пептиды, полипептиды, белки с молекулярной направленностью.

Последовательность этапов разработки новых противоопухолевых лекарственных средств сохраняется такой же, как и при исследовании любого нового вещества, и включает этапы изучения фармакологической активности в системах *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, определения фармакокинетических параметров, а также оценку параметров безопасности.

Современные требования к тест-системам *in vitro* включают наличие охарактеризованных

по гистогенезу стандартизованных культур опухолевых клеток, представленных в Американской коллекции типовых культур клеток АТСС и Немецкой коллекции клеточных культур и микроорганизмов DSMZ⁵.

В настоящее время в экспериментальных исследованиях для выявления потенциальной противоопухолевой активности *in vitro* и быстрой идентификации агентов используют фенотипический скрининг на панелях клеточных линий различного гистогенеза [41]. Фенотипический скрининг направлен на оценку цитотоксического действия лекарственных средств в отношении опухолевых клеток и считается полуэмпирическим подходом, который не требует знания основного механизма действия вещества [42]. Этот подход является скрининговой системой первичного отбора соединений с потенциальной противоопухолевой активностью и основан на определении концентрации, подавляющей рост 50% клеток в культуре (inhibitory concentration, IC₅₀), концентрации вещества, вызывающей гибель 50% клеток (lethal concentration, LC₅₀), и концентрации вещества, вызывающей снижение функции у 50% клеток (effective concentration, EC₅₀).

К настоящему моменту разработана технология культивирования опухолевых клеток в трехмерной системе (3D), которая позволяет формировать органоиды — самоорганизующиеся микроткани, встроенные в трехмерный внеклеточный матрикс, которые имеют несколько типов дифференцированных клеток, проявляют клеточную поляризацию и имеют архитектурные особенности, подобные моделям *in vivo*. В отличие от двумерных систем, которые не всегда обеспечивают достоверный прогноз действия исследуемого лекарственного средства, 3D-системы позволяют имитировать условия микроокружения опухоли, гетерогенность ее клеточного состава, патофизиологические, биохимические и молекулярные характеристики, условия развития опухоли в организме [43].

Для таргетных препаратов целесообразно использовать опухолевые клетки с наличием молекулярных мишеней (биомаркеров), которые идентифицируют с использованием геномного (ДНК), транскриптомного (экспрессия генов на уровне РНК), протеомного (экспрессия белка), метаболического (профилирование метаболитов) анализов.

В ряде случаев исследования в системе *in vitro* выполняют на культурах первичных клеток, обладающих определенными преимуществами по сравнению с иммортализованными культурами клеток. Первичные культуры опухолевых клеток соответствуют генотипу *in vivo* с наличием терапевтической мишени и поэтому могут быть использованы

для оценки направленного фармакологического действия на молекулярном уровне.

Также для скрининга молекул-кандидатов применяют опухолевые клетки, полученные генно-инженерным путем, с направленными изменениями в структуре генов или выключенной экспрессией определенного гена [44, 45].

Несмотря на имеющиеся преимущества отбора противоопухолевых препаратов в системе *in vitro*, до сих пор решающую роль в медико-биологических исследованиях играют исследования на животных. Для ряда препаратов культуры клеток вовсе не могут быть адекватным индикатором активности, поскольку для реализации ими противоопухолевого эффекта требуется их активация в условиях *in vivo*. Системы *in vitro* также неадекватны при изучении эффективности антиметастатических и антиангиогенных лекарственных средств.

Традиционным подходом в экспериментальной онкологии для разработки опухолевых моделей *in vivo* является трансплантация опухолевых клеток инбредным мышам или крысам (сингенные модели), а также ксенотрансплантация опухолевых клеток человека, культивируемых *in vitro*, бестимусным мышам с ослабленным иммунитетом или мышам с тяжелым иммунодефицитом [46]. Традиционно этот подход используют в доклинических фармакологических исследованиях по изучению неспецифических химиотерапевтических лекарственных средств.

Другой метод моделирования экспериментальных опухолей человека — это прямой перенос (ксенотрансплантация) опухолевого материала большого иммунодефицитным мышам с целью получения ксенографта опухоли человека (patient-derived xenografts, PDX) [47]. PDX-модели используют в фармакологических исследованиях для оценки терапевтической эффективности таргетных молекул, которые проявляют фармакологическую активность только для определенного типа опухоли со специфическими молекулярно-генетическими характеристиками. Для этого опухолевый материал от пациентов до переноски мышам подвергают тщательному анализу (морфологическому, иммунохимическому, молекулярно-генетическому) с целью получения информации о наличии/отсутствии биомаркера, который будет являться мишенью для воздействия тестируемого лекарственного средства. После успешной трансплантации опухоли человека мышам и полной ее биологической адаптации этот биоматериал становится объектом для коллекционирования в биобанке. Таким способом создают коллекции различных типов/подтипов опухолей с описанными морфологическими признаками и выявленными геномными, транскриптомными, эпигеномными

⁵ <https://lgcstandards-atcc.org>
<https://dsmz.de>

изменениями. В перспективе биологический материал может стать моделью опухоли человека, на которой будут проводить тестирование вновь созданной таргетной молекулы-кандидата в противоопухолевые лекарственные средства, предназначенного для группы больных злокачественными новообразованиями с определенным молекулярно-генетическим статусом.

Очевидным преимуществом ксенотрансплантации является возможность использования опухолей человека, однако отсутствие функционального иммунного фона и естественного для человека опухолевого микроокружения служит большим ограничением для изучения таргетных иммунных препаратов. Это вызвано тем, что тестирование препаратов, стимулирующих противоопухолевые иммунные реакции, возможно только в иммунокомпетентном организме на моделях сингенных опухолей (иммунокомпетентные модели).

Существует подход, предполагающий генетическое вмешательство в геном мыши с использованием различных технологий с целью получения генно-инженерных мышей (genetically engineered mice, GEM), у которых в условиях естественного иммунного микроокружения спонтанно развиваются опухоли, имитирующие гистопатологические и молекулярные особенности злокачественных новообразований, демонстрирующие генетическую гетерогенность и способность к метастазированию [48].

GEM-модели со спонтанными опухолями являются лучшими прогностическими моделями для оценки антиметастатического действия препаратов, а также являются ценными инструментами для оценки механизмов, лежащих в основе процессов резистентности к молекулярно-направленным препаратам. Ожидается, что исследования доклинической эффективности инновационных препаратов с использованием GEM-моделей обеспечат наибольшую предсказуемость их действия при клинических исследованиях.

Однако биопрепараты, как правило, обладают видоспецифической фармакологической активностью, и их испытание на животных приводит к развитию иммунного ответа на чужеродный белок (человека), выработке антител, которые его нейтрализуют, и, соответственно, к снижению фармакологической активности. В связи с этим изучение препаратов возможно только с использованием релевантной тест-системы, например гуманизированных животных, которые способны продуцировать иммунокомпетентные клетки человека, улучшая тем самым условия ксенотрансплантации опухолей человека [49].

Создание гуманизированной PDX-модели предполагает ксенотрансплантацию опухолевого

материала человека, охарактеризованного по генетическим и метаболическим параметрам, гуманизированным мышам [50] с отсутствием трансплантационного иммунитета. Эта модель почти полностью сохраняет гистогенез, фенотип, гетерогенность исходной опухоли, что позволяет получить прямую корреляцию между терапевтическими эффектами таргетных препаратов, направленных на стимуляцию противоопухолевых иммунных реакций, в эксперименте и клинике.

В случае отсутствия релевантных видов животных может быть использован альтернативный подход, такой как использование модельного препарата с гомологичной молекулой⁶. Гомологичный белок — белок животного происхождения, например мыши, который распознает антигены-мишени у соответствующего вида животных с той же эффективностью, с какой препарат, предназначенный для клинических исследований, распознает соответствующую мишень (мишени) у человека. Однако существует вероятность того, что фармакологические механизмы действия модельного препарата и препарата, предназначенного для клинического использования, могут различаться.

Основываясь на механизме действия, для молекулярно-направленных веществ целесообразно проводить оценку фармакологического действия на мишень-ориентированных PDX-моделях с использованием модифицированных критериев ответа при солидных опухолях (modified response evaluation criteria in solid tumors, mRECIST): полный ответ (CR), частичный ответ (PR), стабилизация заболевания (SD) и прогрессирование заболевания (PD) [51]. В расчетах критериев mRECIST применяют традиционные количественные параметры: уровень торможения роста опухоли, задержка роста опухоли и другие [52–54].

Установление фармакокинетических характеристик, таких как динамика концентрации исходного вещества, распределения, материальный баланс, механизмы и пути метаболизма и элиминации на релевантном виде животных, а в ряде случаев и на модели заболевания, является важным аспектом в выборе эффективной дозы и режима введения лекарственного средства.

В результате фармакодинамические показатели определяются как зависимость эффекта от дозы (концентрации), где концентрация — это фармакокинетический показатель (площадь под кривой зависимости «концентрация–время» или максимальная концентрация); эффект — это модуляция фармакодинамического биомаркера, или ингибирование/задержка роста опухоли, или величина mRECIST, а для ряда препаратов — мера безопасности, включающая широту терапевтического и токсического действия [55].

⁶ K1CH S6(R1). Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.

Такой мультипараметрический подход к оценке фармакологического действия исследуемого вещества позволяет:

1) выявить диапазон терапевтических доз, при которых наблюдается снижение скорости роста опухоли или стабилизация процесса, а возможно, и уровень доз, для которых характерна частичная (во времени) или полная регрессия;

2) оценить уровень изменения специфической опухолевой мишени (биомаркера) с целью корректировки доз, поскольку известно, что фармакодинамические биомаркеры (биомаркеры ответа на лечение) применяются не только для проверки концепции о том, что лекарство вызывает фармакологический ответ, но и ориентированы на исследования «доза–эффект»;

3) определить потенциальную группу пациентов с определенным типом опухоли.

Таким образом, является целесообразным включение разработки предикторной модели с мишенью/биомаркером в программу доклинических исследований по оценке терапевтического действия молекулярных или биофармацевтических агентов. Специфический биомаркер будет являться индикатором фармакологического эффекта, качественно или количественно измеряемым параметром активности в отношении молекулярной мишени или показателем степени модуляции сигнального пути. Использование биомаркеров приведет к выявлению потенциально эффективных лекарственных средств, ускорит их продвижение в клинику и позволит исключить дальнейшие исследования неэффективных соединений.

ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ИЗУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Дизайн и объем доклинических исследований по оценке безопасности различаются в зависимости от типа изучаемого противоопухолевого препарата — для низкомолекулярных лекарственных средств (продуктов химического синтеза) и биологических препаратов (продуктов биотехнологического синтеза).

Методология доклинического изучения безопасности противоопухолевых лекарственных средств представлена как в национальном Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ⁷, так и в международных Руководствах ИСН⁸.

Программа доклинической оценки безопасности **цитостатических противоопухолевых лекар-**

ственных средств включает исследования острой токсичности и хронической токсичности на двух видах животных и иммунотоксичности. Путь и режим введения препаратов животным должны соответствовать предлагаемому пути и режиму введения препарата человеку.

Для препаратов, рекомендованных для внутривенного применения, целесообразно проводить исследования по оценке совместимости препарата с кровью.

Исследование генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности цитостатических препаратов нецелесообразно ввиду того, что противоопухолевые препараты *a priori* являются мутагенами и канцерогенами, так как механизм цитостатического действия реализуется либо путем прямого взаимодействия с ДНК, либо через ферменты, ответственные за синтез и функции ДНК. Однако подобный механизм не обеспечивает истинную избирательность противоопухолевого действия, поскольку уязвимыми для поражения цитостатиками являются не только злокачественные, но и активно пролиферирующие клетки нормальных тканей.

При исследовании общетоксических свойств (острая и хроническая токсичности) целесообразно использовать не только грызунов, но и крупных животных — плотоядных животных, собак. Использование различных видов животных позволит более достоверно оценить токсический потенциал исследуемого лекарственного средства, определить коэффициент видовой чувствительности и более точно прогнозировать вероятность развития токсических и побочных эффектов препарата у человека при его клиническом изучении.

При оценке острой токсичности лекарственного средства на грызунах, на наш взгляд, недостаточным является определение только максимальной переносимой дозы и/или летальной дозы LD₅₀, целесообразно также определять и другие количественные критерии, характеризующие острую токсичность лекарственного средства: LD₁₀, LD₁₆ и LD₈₄, которые в дальнейшем используются для оценки степени опасности лекарственного средства при его однократном применении. При изучении субхронической/хронической токсичности желательнее определить три уровня доз: высокую токсическую дозу, низкую токсическую дозу и высокую нетоксическую дозу⁹.

Ввиду отсутствия у цитостатических лекарственных средств избирательности токсического действия, важной является оценка степени опасности

⁷ Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012.

Хабриев РУ, ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.

⁸ ICH S9. Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

ICH S9. Questions and answers: nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

⁹ Хабриев РУ, ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.

токсического действия при их однократном и многократном применении.

Для оценки степени опасности данного класса препаратов целесообразно анализировать количественные критерии токсичности: широту терапевтического действия, широту токсического действия, широту смертельного действия, коэффициент видовой чувствительности, наличие кумулятивных свойств у исследуемого препарата (индекс кумуляции, коэффициент кумуляции)¹⁰. Для характеристики противоопухолевых препаратов по степени опасности целесообразно использовать классификации, предложенные авторитетными токсикологами [56, 57].

Принимая во внимание, что для цитотоксических лекарственных средств характерны отсутствие избирательной токсичности и отсроченная токсичность, которая проявляется скрытым (латентным) периодом до клинической манифестации, при планировании доклинических исследований срок наблюдения за животными в экспериментах по изучению острой токсичности должен быть не менее 30 суток, а в экспериментах по изучению хронической токсичности — от 30 до 90 суток после последнего введения лекарственного средства в зависимости от механизма действия, фармакокинетических параметров и образности проявлений токсичности.

Программа доклинического изучения лекарственных средств, которые предполагают назначать больному для лечения в течение длительного времени (химиопрепараты для адъювантной терапии, гормональные препараты), более обширна и включает этапы исследований, рекомендованные для препаратов неонкологического профиля¹¹.

Гормональные препараты обычно не являются прямыми цитотоксическими лекарственными средствами и действуют как антиэстрогены, (анти) прогестины, (анти)андрогены, ингибиторы ароматазы, агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона. Поэтому оценка безопасности должна быть сосредоточена на результатах их долгосрочного воздействия на все системы организма, особенно на функциональную активность репродуктивной системы, фертильность, на беременность, внутриутробное и постнатальное развитие потомства, а также на потенциальную индукцию злокачественных новообразований. Минимальная продолжительность лечения у животных должна быть не менее 6 месяцев у грызунов и не менее 12 месяцев у негрызунов. Несмотря на то что эти препараты разрабатываются для применения с учетом полового признака, доклинические испытания целесообразно проводить на животных обоего пола, что позволит идентифицировать токсичность, не связанную с первичным

действием гормонального препарата, которое может быть скрыто у животных того же пола, что и предполагаемая группа пациентов [58]. Также является целесообразным проведение генотоксических исследований, изучение канцерогенности, репродуктивной токсичности и фертильности у крыс и токсичности у крыс и кроликов [59].

Мишени терапевтического действия **таргетных противоопухолевых препаратов** могут находиться не только в опухолевых, но и в нормальных клетках и тканях организма, поэтому токсический профиль таргетной терапии определяется механизмом действия, биораспределением препарата в организме, дозой и длительностью его применения, а также временем полувыведения [60]. При проведении таргетной противоопухолевой терапии у человека токсические реакции наблюдаются со стороны сердечно-сосудистой системы (изменение артериального давления, коагулопатии, аритмии, мио- или перикардиты, инфаркт миокарда, кардиомиопатия, сердечная недостаточность), дыхательной системы (инфильтраты в легких, интерстициальный пневмонит, облитерирующий бронхиолит), мочевыделительной системы (протеинурия, микроангиопатия, нефротический синдром, почечная недостаточность), желудочно-кишечного тракта (диарея, мукозиты, перфорации, фистулы), центральной нервной системы (синдром задней обратимой лейкоэнцефалопатии), а также со стороны эндокринных желез (гипопаратиреоидизм), костного мозга, кожи (ладонно-подошвенный синдром, сыпь). Как правило, они обратимы, но в ряде случаев могут быть жизнеугрожающими и даже заканчиваться летальным исходом [61].

Программа доклинического изучения **таргетных низкомолекулярных лекарственных средств** включает исследования острой токсичности, хронической токсичности и репродуктивной токсичности на двух видах животных, а также иммунотоксических свойств. Однако при подтверждении эмбриофетальной онтогенетической токсичности на одном виде животных исследование на втором виде не требуется¹². Генотоксические свойства достаточно изучить в тесте Эймса. Для таргетных низкомолекулярных препаратов проведение исследований канцерогенности является нецелесообразным.

Доклиническое изучение безопасности **биотехнологических препаратов** также направлено на выявление потенциальной токсичности и соответствующих параметров ее мониторинга при клинических испытаниях.

Токсикологические исследования следует проводить на фармакологически релевантных (чувствительных) видах животных, у которых

¹⁰Там же.

¹¹ICH M3(R2) Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.

¹²ICH S9. Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals.

исследуемый препарат является фармакологически активным. Для МкАТ, фрагментов антител и слитных белков исследования проводят с использованием нечеловекообразных приматов, поскольку известно, что большинство этих препаратов не проявляет биологическую активность при использовании стандартных тест-систем (мыши, крысы и собаки). В случае отсутствия релевантных тест-систем возможен подбор модельного препарата животного происхождения с гомологичной молекулой.

Однако следует учитывать, что качественные и количественные изменения в организме животных могут отличаться от реакций на препарат у человека. В процессе интерпретации результатов исследования необходимо обратить внимание на различия в аффинности препарата к молекулярным мишеням, тканевом распределении молекулярной мишени, клеточных последствиях связывания мишеней, клеточных регуляторных механизмах и метаболизме препарата.

В связи с вышесказанным для биотехнологических препаратов подход к изучению безопасности имеет существенные отличия по сравнению с дизайном доклинических исследований низкомолекулярных лекарственных средств¹³. В частности, изучение острой токсичности, как правило, не требуется. Однако, на наш взгляд, целесообразным является введение ограниченной группе животных дозы исследуемого препарата, превышающей максимальную терапевтическую дозу в 50–100 раз, для определения его безопасности по критерию «широта терапевтического действия». Эти данные могут быть использованы для выбора доз при исследовании хронической токсичности.

При планировании исследований по изучению хронической токсичности биотехнологических препаратов необходимо учитывать предполагаемую длительность клинического применения, и для оценки потенциальной отсроченной токсичности в дизайне исследований должны быть использованы доза, при которой наблюдается максимальный фармакологический эффект, и доза, превышающая таковую в 10 раз.

Для биотехнологических лекарственных средств не рекомендуется использовать рутинные подходы многоуровневых иммунотоксических исследований, а только скрининговые тесты с учетом механизма действия препарата, так как эти лекарственные средства могут стимулировать или подавлять иммунную систему, оказывая влияние на гуморальный и клеточный иммунитет. Однако одним из важнейших аспектов изучения иммунотоксичности

для данного класса препаратов является оценка их иммуногенности, которую целесообразно, на наш взгляд, изучать в рамках исследований хронической токсичности.

Оценку репротоксичности таких препаратов проводят на одном релевантном виде животных. Если единственным релевантным видом животных являются нечеловекообразные приматы или имеются сведения литературы о репродуктивных токсических эффектах известных препаратов, которые подобны исследуемым биотехнологическим, то целесообразно представить научное обоснование потенциально возможного влияния препарата на фертильность, эмбриональное, фетальное и препостнатальное развитие плода. В качестве альтернативы можно использовать результаты токсикологических исследований, например по оценке влияния препарата на репродуктивные органы.

Особое внимание необходимо уделить исследованиям фармакологической безопасности, которая является неотъемлемой частью доклинической оценки безопасности новых лекарственных препаратов¹⁴, включая все классы противоопухолевых лекарственных средств. Необходимо проводить исследования, отражающие влияние препарата на жизненно важные системы организма: сердечно-сосудистую¹⁵, дыхательную и центральную нервную [62]. Также для проведения исследований, на наш взгляд, целесообразно использовать рекомендованный для клинического применения путь введения и два уровня доз (терапевтическую и максимально переносимую дозы).

Токсикокинетические исследования в настоящее время являются рутинным компонентом комплексных токсикологических экспериментов при доклиническом изучении безопасности лекарственных средств¹⁶. Для оценки корреляции системной экспозиции с токсическими эффектами используются основные фармакокинетические параметры: значение максимальной концентрации (C_{max}), время достижения максимальной концентрации (T_{max}) и интегральная площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» (area under curve, AUC).

Включение токсикокинетических исследований в программу доклинического токсикологического изучения имеет принципиальное значение для экстраполяции экспериментальных данных и прогноза безопасности применения лекарственных средств у человека, так как эти данные отражают биодоступность исследуемого вещества с наблюдаемыми токсическими эффектами и концентрацией исследуемого соединения в биоматериале [63].

¹³ICH S6(R1). Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals.

¹⁴ICH S7A. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals.

¹⁵Там же.

ICH S7B. Non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarisation (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals.

¹⁶ICH S3A. Toxicokinetics: a guidance for assessing systemic exposure in toxicology studies.

На сегодняшний день вопрос оценки алергизирующих свойств в рамках доклинических исследований носит дискуссионный характер. В работе ряда авторов [64–66] представлены результаты исследований алергизирующих свойств препаратов с разной молекулярной массой действующего вещества в стандартных тестах на морских свинках. Эти исследования подтверждают отсутствие корреляции между экспериментальными и клиническими данными, что свидетельствует о невозможности сделать корректный прогноз развития алергических реакций у человека.

Таким образом, весь спектр токсикологических исследований позволяет установить уровень токсических доз и дозу, не оказывающую нежелательного действия (no-observed adverse effect level, NOAEL), которая используется для выбора стартовой дозы в клинических исследованиях, впервые проводимых у человека¹⁷.

Выбор стартовой дозы для препаратов для адъювантной терапии, гормональных препаратов проводят по Рекомендациям Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (FDA)¹⁸ для препаратов неонкологического профиля на основании установленной NOAEL. Стартовая безопасная доза препарата может быть определена как 1/10 (фактор безопасности 10) от дозы NOAEL и выражается в мг/м². Пересчет доз с животного на человека осуществляется с использованием межвидовых коэффициентов переноса доз с учетом площади поверхности тела [67, 68]. Дополнительные факторы безопасности могут учитываться при наличии крутой кривой «доза–токсический эффект», тяжелых токсических явлений с длительной обратимостью, таких как гематотоксичность, нефротоксичность, гепатотоксичность, кардиотоксичность и нарушения центральной нервной системы.

Начальная доза для низкомолекулярных таргетных противоопухолевых препаратов выбирается как 1/10 (фактор безопасности 10) от дозы, которая вызывает гибель или необратимую тяжелую токсичность у 10% грызунов (severely toxic dose, STD₁₀) и не вызывает серьезную необратимую токсичность у наиболее чувствительных видов животных — у негрызунов. Если предполагаемая начальная доза, рассчитанная по данным у грызунов, вызывает необратимую токсичность у негрызунов или известно, что этот вид животных является наиболее чувствительным или подходящим для моделирования заболевания, тогда начальная доза выбирает-

ся как 1/6 (коэффициент безопасности 6) от дозы, которая не вызывает гибели и серьезной необратимой токсичности у негрызунов (highest non-severely toxic dose, HNSTD). Тяжелые токсические эффекты включают: гибель животных, энцефалопатию, судороги, паралич, необратимую атаксию, кардиотоксичность и др. Для малых молекул STD₁₀ и HNSTD рассчитывают на единицу площади поверхности тела (мг/м²)¹⁹.

Для лекарственных средств, как правило, релевантными видами животных являются приматы. Токсические реакции, связанные с биотехнологическими препаратами, являются эффектом чрезмерной фармакологии, опосредованной мишенью. Поскольку многие препараты этого класса имеют высокую молекулярную массу (>100кДа) и вводятся внутривенно, то дозы для человека рассчитывают на единицу массы (мг/кг), а не площади поверхности тела [69]. Для выбора стартовой дозы используется расчет NOAEL для наиболее чувствительных к воздействию препарата видов животных. Начальная доза биопрепаратов (рекомбинантные белки, цитокины, факторы роста) выбирается как 1/10 (фактор безопасности 10) от дозы, не вызывающей побочного действия на релевантном виде животных, с учетом корректировки по аффинности мишени у человека и обезьяны (релевантного вида), длительного периода полувыведения, потенциальной иммуногенности и других факторов.

При отсутствии релевантных видов животных для биофармацевтических препаратов вместо расчета NOAEL определяют минимальную дозу, которая вызывает фармакологический ответ, полученный с использованием данных фармакодинамики *in vitro* и *in vivo* и фармакокинетики (minimum anticipated biological effect level, MABEL)²⁰.

Для МКАТ является целесообразным с целью выбора стартовой дозы в клинических исследованиях, впервые проводимых у человека, основываться на определении MABEL даже в том случае, если доклинические исследования проводились на релевантных тест-системах [70, 71].

Таким образом, для противоопухолевых препаратов нового поколения следует разрабатывать индивидуальный дизайн исследования с включением основных приемов и методов доклинического изучения, направленного на выявление потенциальной способности вызывать непредвиденные и нежелательные реакции у человека.

Особенности токсического действия противоопухолевых препаратов различных классов, их

¹⁷European Medicines Agency. Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human and early clinical trials with investigational medicinal products (EMA/CHMP/SWP/28367/07 Rev. 1). 2017.

¹⁸Preclinical Development of Oncology Drugs. A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development. 2017.

¹⁹Food and Drug Administration Guidance for Industry. Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics for adult healthy volunteers. 2005.

²⁰European Medicines Agency. Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human and early clinical trials with investigational medicinal products (EMA/CHMP/SWP/28367/07 Rev. 1). 2017.

вариабельность и сложность выявления требуют специфических и неординарных подходов к доклиническому изучению их токсических свойств. При этом, согласно международным требованиям, только доклинические исследования безопасности, но не фармакологической эффективности и фармакокинетики, проводят в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP)²¹.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время развитие фундаментальных представлений о разнообразии молекулярных механизмов опухолевой прогрессии идет практически вровень с последними достижениями молекулярно-генетических технологий. Это создает предпосылки для выявления новых драйверных мишеней и для создания препаратов, направленных против них. Успешное внедрение в клиническую практику инновационных препаратов во многом зависит от степени доказанности их безопасности и фармакологической активности на этапе доклинического исследования, дизайн которого имеет ряд особенностей, связанных со структурой основного действующего вещества и многообразием его фармакологического действия.

Проблемы в области доклинических исследований в Российской Федерации обусловлены именно тем, что рост научных исследований в последние десятилетия обуславливает значительные изменения в методических подходах к изучению фармакологических свойств инновационных препаратов. Однако этот прогресс в методологии и методах становится основой национальных руководств лишь спустя годы после их разработки. Поэтому с точки зрения современных достижений фармакологии, предлагаемые в национальных Руководствах по доклиническому изучению лекарственных средств²² тест-системы *in vitro*, модели опухолей *in vivo* в большинстве своем не являются релевантными и не позволяют оценить потенциальный механизм действия и фармакологические эффекты лекарственных средств.

На сегодняшний день существует необходимость в гармонизации методических подходов национальных и международных Руководств к доклинической оценке безопасности противоопухолевых лекарственных средств, в рамках которой необходимо разработать программу доклинического изучения общетоксических свойств и других видов токсичности для каждого класса противоопухолевых лекарственных средств, которой можно придать форму конкретных протоколов; определить оптимальный объем этих исследований, необходимый для достоверной оценки токсических свойств

противоопухолевых лекарственных средств; унифицировать терминологию и суть количественных критериев, которые характеризуют токсический потенциал лекарственного средства; разработать четкий алгоритм выбора стартовой безопасной дозы препарата для человека на I фазу клинического исследования с учетом токсического потенциала исследуемого лекарственного средства для каждого класса противоопухолевых препаратов.

Вклад авторов. *О. А. Безбородова* — сбор и анализ материала по характеристике противоопухолевых препаратов различных классов и изучению их фармакологической активности, ответственность за все аспекты работы и целостность всех частей статьи; *А. А. Панкратов* — сбор и анализ материала по изучению безопасности противоопухолевых препаратов, написание раздела по безопасности; *Е. Р. Немцова* — анализ материала по изучению фармакологической активности противоопухолевых препаратов, редактирование текста; *Ю. Б. Венедиктова* — получение экспериментальных результатов по изучению фармакологических свойств противоопухолевых препаратов; *М. С. Воронцова* — получение экспериментальных результатов по изучению безопасности противоопухолевых препаратов; *Г. Н. Енгальчева* — анализ международных и национальных руководств по доклиническим исследованиям лекарственных средств, консультации по вопросам изучения фармакологической безопасности препаратов; *Р. Д. Сябаев* — предложение идеи и составление плана обзора, анализ международных и национальных руководств по доклиническим исследованиям лекарственных средств, интерпретация результатов работы, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Author's contributions. *Olga A. Bezborodova*—collection and analysis of data on characterisation of various classes of anti-tumour drugs and on evaluation of their pharmacological activity; control of all aspects of the study and integrity of all parts of the paper; *Andrey A. Pankratov*—collection and analysis of data on safety of anti-tumour drugs, writing the part of the review devoted to safety; *Elena R. Nemtsova*—analysis of data on various aspects of studying pharmacological activity of anti-tumour drugs, editing of the paper; *Yulia B. Venediktova*—experimental study of anti-tumour drugs' pharmacological properties; *Maria S. Vorontsova*—experimental study of anti-tumour drugs' safety; *Galina N. Engalycheva*—analysis of international and national guidelines on preclinical studies of medicines, providing advice on safety pharmacology studies; *Rashid D. Syubaev*—elaboration of the idea and plan of the review, analysis of international and national guidelines on preclinical studies of medicines, interpretation of the results of the study, approval of the final version of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России на проведение прикладных научных исследований по теме «Создание методических рекомендаций к разработке релевантных опухолевых моделей у животных для экспериментального изучения различных видов противоопухолевой радиационной терапии».

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as a part of the publicly funded research project "Elaboration of Guidelines for the Development of Relevant Tumour Models in Animals for Experimental Study of Various

²¹ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ; 2019.

²²Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012.

Хабриев РУ, ред. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.

Types of Anti-Tumour Radiation Therapy” and was supported by the National Medical Radiology Research Centre.

Конфликт интересов. Р. Д. Сюбаев является членом редакционной коллегии журнала «Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения», остальные

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. R. D. Syubaev is a member of the Editorial Board of the “The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products”. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Mokhtari RB, Homayouni TS, Baluch N, Morgatskaya E, Kumar S, Das B, et al. Combination therapy in combating cancer. *Oncotarget*. 2017;8(23):38022–43. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16723>
- Goodman LS, Wintrobe MM, Dameshek W, Goodman MJ, Gilman A, McLennan MT. Nitrogen mustard therapy. Use of methyl-bis(beta-chloroethyl)amine hydrochloride and tris(beta-chloroethyl)amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *J Am Med Assoc*. 1984;251(17):2255–61. <https://doi.org/10.1001/jama.1984.03340410063036>
- Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256(5517):495–7. <https://doi.org/10.1038/256495a0>
- Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med*. 2005;353:172–87. <https://doi.org/10.1056/NEJMra044389>
- Scott AM, Allison JP, Wolchok JD. Monoclonal antibodies in cancer therapy. *Cancer Immun*. 2012;12:14. PMID:22896759
- Tsimberidou AM. Targeted therapy in cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015;76(6):1113–32. <https://doi.org/10.1007/s00280-015-2861-1>
- DeVita Jr VT, Chu E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res*. 2008;68(21):8643–53. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-6611>
- Puyo S, Montaudon D, Pourquie P. From old alkylating agents to new minor groove binders. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014;89(1):43–61. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2013.07.006>
- Tiwari M. Antimetabolites: established cancer therapy. *J Cancer Res Ther*. 2012;8(4):510–9. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.106526>
- De Abreu RA, Lambooy LH, Ahment K, Brouwer C, Keizer-Garritsen JJ, Bokkerink JP, et al. 6-mercaptopurine: efficacy and bone marrow toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Adv Exp Med Biol*. 2000;486:271–5. https://doi.org/10.1007/0-306-46843-3_53
- Wei Y, Yang P, Cao S, Zhao L. The combination of curcumin and 5-fluorouracil in cancer therapy. *Arch Pharm Res*. 2018;41(1):1–13. <https://doi.org/10.1007/s12272-017-0979-x>
- Carrillo E, Navarro SA, Ramírez A, García MÁ, Griñán-Lisón C, Perán M, et al. 5-Fluorouracil derivatives: a patent review (2012–2014). *Expert Opin Ther Pat*. 2015;25(10):1131–44. <https://doi.org/10.1517/13543776.2015.1056736>
- Hortobágyi GN. Anthracyclines in the treatment of cancer. An overview. *Drugs*. 1997;54(Suppl. 4):1–7. <https://doi.org/10.2165/00003495-199700544-00003>
- Arruebo M, Vilaboa N, Sáez-Gutierrez B, Lambea J, Tres A, Valladares M, et al. Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. *Cancers (Basel)*. 2011;3(3):3279–330. <https://doi.org/10.3390/cancers3033279>
- Wu P, Clausen MH, Nielsen TE. Allosteric small-molecule kinase inhibitors. *Pharmacol Ther*. 2015;156:59–68. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.10.002>
- Pento JT. Monoclonal antibodies for the treatment of cancer. *Anticancer Res*. 2017;37(11):5935–9. <https://doi.org/10.21873/anticancer.12040>
- Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346(4):235–42. <https://doi.org/10.1056/nejmoa011795>
- Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile JF, Lederlin P, Sebban C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood*. 2003;101(11):4279–84. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-11-3442>
- Quackenbush RC, Horner TJ, Williams VC, Giampietro P, Lin TS. Patients with relapsed follicular lymphoma treated with rituximab versus tositumomab and iodine I-131 tositumomab. *Leuk Lymphoma*. 2015;56(3):779–81. <https://doi.org/10.3109/10428194.2014.927461>
- Müller V, Clemens M, Jassem J, Al-Sakaff N, Auclair P, Nüesch E, et al. Long-term trastuzumab (Herceptin™) treatment in a continuation study of patients with HER2-positive breast cancer or HER2-positive gastric cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1):295. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4183-2>
- Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol*. 2013;24(9):2278–84. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt182>
- Vincenzi B, Zoccoli A, Pantano F, Venditti O, Galluzzo S. Cetuximab: from bench to bedside. *Curr Cancer Drug Targets*. 2010;10(1):80–95. <https://doi.org/10.2174/156800910790980241>
- Poulin-Costello M, Azoulay L, Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, Wolf M. An analysis of the treatment effect of panitumumab on overall survival from a phase 3, randomized, controlled, multicenter trial (20020408) in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer. *Target Oncol*. 2013;8(2):127–36. <https://doi.org/10.1007/s11523-013-0271-z>
- Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. *Drugs*. 2014;74(16):1891–925. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0302-9>
- Bouchard H, Viskov C, Garcia-Echeverria C. Antibody-drug conjugates—a new wave of cancer drugs. *Bioorg Med Chem Lett*. 2014;24(23):5357–63. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.10.021>
- Barok M, Joensuu H, Isola J. Trastuzumab emtansine: mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Res*. 2014;16(2):209. <https://doi.org/10.1186/bcr3621>
- Herrera A, Moskowitz A, Bartlett N, Vose J, Ramchandren R, Feldman TA, et al. Interim results of brentuximab vedotin in combination with nivolumab in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2018;131(11):11183–94. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-10-811224>
- Beck A, Goetsch L, Dumontet C, Corvaia N. Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16(5):315–37. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.268>
- Rossari F, Minutolo F, Orciuolo E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):84. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0624-2>
- Steins M, Thomas M, Geißler M. Erlotinib. *Recent Results Cancer Res*. 2018;211:1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91442-8_1
- Voigtlaender M, Schneider-Merck T, Trepel M. Lapatinib. *Recent Results Cancer Res*. 2018;211:19–44. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91442-8_2
- Imbulgoda A, Heng DY, Kollmannsberger C. Sunitinib in the treatment of advanced solid tumors. *Recent Results Cancer Res*. 2014;201:165–84. https://doi.org/10.1007/978-3-642-54490-3_9
- Fasolo A, Sessa C. Targeting mTOR pathways in human malignancies. *Curr Pharm Des*. 2012;18(19):2766–77. <https://doi.org/10.2174/138161212800626210>
- Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghi A, Spandidos DA, McCubrey JA, et al. Cutaneous melanoma: from pathogenesis to therapy (review). *Int J Oncol*. 2018;52(4):1071–80. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4287>

35. Salemi R, Falzone L, Madonna G, Polesel J, Cinà D, Mallardo D, et al. MMP-9 as a candidate marker of response to BRAF inhibitors in melanoma patients with BRAF^{V600E} mutation detected in circulating-free DNA. *Front Pharmacol*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00856>
36. Goldschmidt H, Moreau P, Ludwig H, Niesvizky R, Chng WJ, Joshua D, et al. Carfilzomib-dexamethasone versus subcutaneous or intravenous bortezomib in relapsed or refractory multiple myeloma: secondary analysis of the phase 3 ENDEAVOR study. *Leuk Lymphoma*. 2018;59(6):1364–74. <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1376743>
37. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013;39(1):1–10. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>
38. Amdahl J, Chen L, Delea TE. Network meta-analysis of progression-free survival and overall survival in first-line treatment of BRAF mutation-positive metastatic melanoma. *Oncol Ther*. 2016;4(2):239–56. <https://doi.org/10.1007/s40487-016-0030-2>
39. Sakamuri D, Glitza IC, Betancourt Cuellar SL, Subbiah V, Fu S, Tsimberidou AM, et al. Phase I dose-escalation study of anti-CTLA-4 antibody ipilimumab and lenalidomide in patients with advanced cancers. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(3):671–6. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-17-0673>
40. Powles T, O'Donnell P, Massard C, Arkenau HT, Friedlander TW, Hoimes TJ, et al. Efficacy and safety of durvalumab in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. Updated results from a phase 1/2 open-label study. *JAMA Oncol*. 2017;3(9):e172411. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2017.2411>
41. Shoemaker RH. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(10):813–23. <https://doi.org/10.1038/nrc1951>
42. Moffat JG, Rudolph J, Bailey D. Phenotypic screening in cancer drug discovery—past, present and future. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(8):588–602. <https://doi.org/10.1038/nrd4366>
43. Duval K, Grover H, Han LH, Mou Y, Pegoraro AF, Fredberg J, et al. Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture. *Physiology (Bethesda)*. 2017;32(4):266–77. <https://doi.org/10.1152/physiol.00036.2016>
44. Yu C, Mannan AM, Yvone GM, Ross KN, Zhang YL, Marton MA, et al. High-throughput identification of genotype-specific cancer vulnerabilities in mixtures of barcoded tumor cell lines. *Nat Biotechnol*. 2016;34(4):419–23. <https://doi.org/10.1038/nbt.3460>
45. Barretina J, Caponigro G, Stransky N, Venkatesan K, Margolin AA, Kim S, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*. 2012;483(7391):603–7. <https://doi.org/10.1038/nature11003>
46. Morton CL, Houghton PJ. Establishment of human tumor xenografts in immunodeficient mice. *Nat Protoc*. 2007;2(2):247–50. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.25>
47. Annibaldi D, Leucci E, Hermans E, Amant F. Development of patient-derived tumor xenograft models. *Methods Mol Biol*. 2019;1862:217–25. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8769-6_15
48. Kersten K, de Visser KE, van Miltenburg MH, Jonkers Jos. Genetically engineered mouse models in oncology research and cancer medicine. *EMBO Mol Med*. 2017;9(2):137–53. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606857>
49. Zhou Q, Facciponte J, Jin M, Shen Q, Lin Q. Humanized NOD-SCID IL2rg^{-/-} mice as a preclinical model for cancer research and its potential use for individualized cancer therapies. *Cancer Lett*. 2014;344(1):13–9. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.10.015>
50. Wege AK, Schmidt M, Ueberham E, Ponnath M, Ortmann O, Brockhoff G, et al. Co-transplantation of human hematopoietic stem cells and human breast cancer cells in NSG mice: a novel approach to generate tumor cell specific human antibodies. *MAbs*. 2014;6(4):968–77. <https://doi.org/10.4161/mabs.29111>
51. Gao H, Korn JM, Ferretti S, Monahan JE, Wang Y, Sing M, et al. High-throughput screening using patient-derived tumor xenografts to predict clinical trial drug response. *Nat Med*. 2015;21(11):1318–25. <https://doi.org/10.1038/nm.3954>
52. Hothorn LA. Statistical analysis of in vivo anticancer experiments: Tumor growth inhibition. *Drug Inform J*. 2006;40:229–38. <https://doi.org/10.1177/02F009286150604000212>
53. Wu J. Statistical inference for tumor growth inhibition T/C ratio. *J Biopharm Stat*. 2010;20(5):954–64. <https://doi.org/10.1080%2F10543401003618983>
54. Wu J, Houghton PJ. Interval approach to assessing antitumor activity for tumor xenograft studies. *Pharm Stat*. 2010;9(1):46–54. <https://doi.org/10.1002/pst.369>
55. Garraalda E, Dienstmann R, Taberero J. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling for drug development in oncology. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017;37:210–15. https://doi.org/10.1200/edbk_180460
56. Березовская ИВ. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химио-фармацевтический журнал*. 2003;37(3):32–4. [Berezovskaya IV. Classification of substances with respect to acute toxicity for parenteral administration. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37(3):139–41 (In Russ.)] <https://doi.org/10.1023/A:1024586630954>
57. Гуськова ТА. *Токсикология лекарственных средств*. М.: МДВ; 2008. [Gus'kova TA. *Toxicology of drugs*. Moscow: MDV; 2008 (In Russ.)]
58. Choudary J, Contrera JF, DeFelice A, DeGeorge JJ, Farrelly JG, Fitzgerald G, et al. Response to Monro and Mehta proposal for use of single-dose toxicology studies to support single-dose studies of new drugs in humans. *Clin Pharmacol Ther*. 1996;59(3):265–7. [https://doi.org/10.1016/s0009-9236\(96\)80003-8](https://doi.org/10.1016/s0009-9236(96)80003-8)
59. Faqi AS, ed. *A comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development*. 2nd ed. New York; Elsevier: 2016.
60. Chen HX, Cleck JN. Adverse effects of anticancer agents that target the VEGF pathway. *Nat Rev Clin Oncol*. 2009;6(8):465–77. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.94>
61. Чубенко ВА. Осложнения таргетной терапии. *Практическая онкология*. 2010;11(3):192–202. [Chubenko VA. Complications of targeted therapy. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology*. 2010;11(3):192–202 (In Russ.)]
62. Енгальчева ГН, Сюбаев РД, Горячев ДВ. Стандарты качества доклинических фармакологических исследований. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(4):248–55. [Engalycheva GN, Syubaev RD, Goryachev DV. Quality standards of preclinical pharmacological studies. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(4):248–55 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2019-9-4-248-255>
63. Сюбаев РД, Енгальчева ГН, Горячев ДВ, Соколов АВ, Чистяков ВВ, Степанова ЕС. Экспертная оценка доклинических исследований токсикокинетики лекарственных средств (обзор). *Химио-фармацевтический журнал*. 2018;52(9):3–7. [Syubaev RD, Engalycheva GN, Goryachev DV, Sokolov AV, Chistyakov VV, Stepanova ES. Expert evaluation of preclinical toxicokinetic studies of pharmaceuticals (review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(9):753–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1894-2>
64. Крышень КЛ, Кательникова АЕ, Мужикян АА, Макарова МН, Макаров ВГ. Регуляторные и методические аспекты изучения алергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(1):44–55. [Kryshen KL, Katelnikova AE, Muzhikyan AA, Makarova MN, Makarov VG. Regulatory and methodological aspects of studying allergenic properties of new medicines at the preclinical stage. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(1):44–55 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55>
65. Choquet Kastylevsky G, Descotes J. Value of animal models for predicting hypersensitivity reactions to medicinal products. *Toxicology*. 1998;129(1):27–35. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(98\)00060-2](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(98)00060-2)
66. Weaver JL, Staten D, Swann J, Armstrong G, Bates M, Hastings KL. Detection of systemic hypersensitivity to drugs using standard guinea pig assays. *Toxicology*. 2003;193(3):203–17. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(03\)00267-1](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(03)00267-1)

67. Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(4):219–44. PMID: 4957125
68. Уланова ИП, Сидоров КК, Халепо АИ. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании. В кн.: Летавет АА, Саночный ИВ, ред. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. Л.: Медицина; 1968. [Ulanova IP, Sidorov KK, Khalepo AN. On consideration of the body surface of experimental animals during toxicological studies. In: Letavet AA, Sanotsky IV. *Toxicology of new industrial chemicals*. Leningrad: Meditsina; 1968 (In Russ.)]
69. Tam K. Estimating the “First in human” dose—a revisit with particular emphasis on oncology drugs. *ADMET & DMPK*. 2013;1(4):63–75. <https://doi.org/10.5599/admet.1.4.10>
70. Johnson DE. Biotherapeutics: Challenges and opportunities for predictive toxicology of monoclonal antibodies. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11):3685. <https://doi.org/10.3390/ijms19113685>
71. Brennan F, Kiessling A. In vitro assays supporting the safety of immunomodulatory antibodies. *Toxicol In Vitro*. 2017;45(Pt. 3):296–308. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.02.025>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

- Безбородова Ольга Алексеевна**, д-р биол. наук. *Olga A. Bezborodova*, Dr. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5009-1508>
- Панкратов Андрей Александрович**, канд. биол. наук. *Andrey A. Pankratov*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7291-9743>
- Немцова Елена Романовна**, д-р биол. наук. *Elena R. Nemtsova*, Dr. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3579-1733>
- Венедиктова Юлия Борисовна**. *Yulia B. Venediktova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0909-4202>
- Воронцова Мария Сергеевна**. *Maria S. Vorontsova*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9320-1746>
- Енгальчева Галина Нинелевна**, канд. биол. наук. *Galina N. Engalycheva*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5121-0858>
- Сюбаев Рашид Даутович**, д-р мед. наук. *Rashid D. Syubaev*, Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-6729-2349>

Статья поступила 25.11.2019
После доработки 12.05.2020
Принята к печати 28.05.2020

Article was received 25 November 2019
Revised 12 May 2020
Accepted for publication 28 May 2020