



Международные стандартные образцы моноклональных антител для оценки биологической активности лекарственных препаратов: современное состояние

Л.А. Гайдерова, Н.А. Алпатова , С.Л. Лысикова, М.Л. Байкова, А.М. Гуськов, Д.А. Зубков

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

 Алпатова Наталья Александровна; alpatova@expmed.ru

Резюме

Актуальность. Эффект клинического применения биотехнологических препаратов на основе моноклональных антител (МкАТ) и истечение срока действия патентов на оригинальные (референтные) препараты стимулировали разработку биоаналогичных МкАТ, профиль качества которых должен соответствовать качеству референтного лекарственного средства. Изучение биологических свойств МкАТ при доказательстве биоподобия и определение активности препаратов в рамках контроля качества серий необходимо проводить с использованием подходящих стандартных образцов (СО). В связи с отсутствием международных стандартов производители препаратов МкАТ применяют собственные стандартные образцы, но, учитывая сложную структуру и гетерогенность МкАТ, а также наличие связи между биологической активностью и клинической эффективностью, нельзя исключить наличие риска расхождения данных о качестве и эффективности препаратов.

Цель. Анализ сведений об актуальности и необходимости разработки международных стандартных образцов (МСО) для определения биологической активности биотерапевтических МкАТ, о роли референтных препаратов и МСО при оценке сходства/подобия, а также на разных этапах жизненного цикла биоаналогичных препаратов МкАТ.

Обсуждение. Рассмотрены проблемы, связанные с отсутствием МСО для оценки активности препаратов МкАТ. Приведены сведения о роли и значимости референтных препаратов и МСО для биоаналогичных препаратов. Представлена информация об особенностях изучения биологических свойств МкАТ и обобщены данные о необходимости разработки и применения МСО для стандартизации биологических тестов. В обзоре представлены результаты исследований первых утвержденных ВОЗ международных стандартных образцов для оценки биологической активности МкАТ, свидетельствующие о необходимости стандартизации препаратов МкАТ с использованием МСО для обеспечения их качества, безопасности и эффективности.

Заключение. Применение МСО для препаратов МкАТ играет ключевую роль в гармонизации подходов к оценке их биологической активности. Общедоступные МСО препаратов МкАТ необходимы как первичные СО для аттестации вторичных СО, для гармонизации подходов к оценке активности МкАТ (в международных единицах) между лабораториями, а также для согласования активности препаратов одного международного непатентованного наименования разных производителей. Использование МСО производителями МкАТ будет способствовать гарантии качества препаратов МкАТ и обеспечению клинического мониторинга эффективности их применения.

Ключевые слова: моноклональные антитела; терапевтические белки; международные стандартные образцы; биоподобие; биоаналогичные (биоподобные) препараты; референтный препарат; качество; биологическая активность; эффективность; биологические тесты

© Л.А. Гайдерова, Н.А. Алпатова, С.Л. Лысикова, М.Л. Байкова, А.М. Гуськов, Д.А. Зубков, 2023

Для цитирования: Гайдерова Л.А., Алпатова Н.А., Лысикова С.Л., Байкова М.Л., Гуськов А.М., Зубков Д.А. Международные стандартные образцы моноклональных антител для оценки биологической активности лекарственных препаратов: современное состояние. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(4):480–498. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-4-480-498>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

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

International standards for monoclonal antibodies for assessing the biological activity of medicines: A status update

Lidia A. Gayderova, Natalia A. Alpatova , Svetlana L. Lysikova, Marina L. Baykova, Alexander M. Guskov, Dmitriy A. Zubkov

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

 Natalia A. Alpatova; alpatova@expmed.ru

Abstract

Scientific relevance. The clinical effects and the expiration of patents for original (reference) biotechnological medicines based on monoclonal antibodies (mAbs) stimulated the development of biosimilar mAbs. The quality profile of a biosimilar mAb should correspond to the quality of the reference medicinal product. When demonstrating biosimilarity and determining the activity of medicines as part of batch quality control, analysts should study the biological properties of mAbs using suitable reference standards. The lack of international standards (ISs) makes mAb manufacturers use in-house reference standards. There is a risk of obtaining non-uniform quality and efficacy data because of the use of in-house reference standards, the heterogeneity and structural complexity of mAbs, and the relationship between the biological activity and efficacy of mAbs.

Aim. This study aimed to analyse the relevance of and need for ISs for the biological activity of biotherapeutic mAbs and to define the role of reference medicinal products and ISs in assessing biosimilarity and testing medicines throughout their lifecycle.

Discussion. This review covers the issues arising from the lack of ISs for assessing the biological activity of mAbs and the role and significance of reference products and ISs for biosimilars. The authors describe the specifics of studying the biological properties of mAbs and summarise the data on the need to develop and use ISs for the standardisation of biological tests. This review presents the results of studies on the first ISs established by the World Health Organisation to assess the biological activity of mAbs; these results suggest the need to standardise mAbs using ISs to ensure the quality, safety, and efficacy of mAb therapy.

Conclusions. The use of ISs for mAbs plays a key role in harmonising biological activity assessments. Publicly available ISs serve as primary standards for the calibration of secondary reference materials. Moreover, ISs are required for the harmonisation of activity evaluation (in IU) between laboratories and for the consistency of the activity of various medicinal products from different manufacturers that share the same INN. The use of ISs by mAb manufacturers will contribute to ensuring the quality of mAbs and clinical monitoring of the effectiveness of their use.

Keywords:

monoclonal antibodies; mAbs; therapeutic proteins; international standards; biosimilarity; biosimilars; reference medicinal product; quality; biological activity; efficacy; biological tests

For citation: Gayderova L.A., Alpatova N.A., Lysikova S.L., Baykova M.L., Guskov A.M., Zubkov D.A. International standards for monoclonal antibodies for assessing the biological activity of medicines: a status update. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(4):480–498. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-4-480-498>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 121022000147-4).

Disclosure. The authors declare having no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Биофармацевтика является одним из наиболее быстроразвивающихся сегментов мирового фармацевтического рынка. Разработка биотехнологических лекарственных препаратов (БТЛП) способствовала появлению новых методов лечения ряда трудноизлечимых заболеваний. По истечении срока действия патентов на зарегистрированные оригинальные (референтные) БТЛП терапевтические белки становятся открытыми для разработки и производства другими компаниями. Однако новый продукт не может быть воспроизведен идентично оригинальному, учитывая модифицированные условия производства и применение иного штамма-производителя. К примеру, могут иметь место посттрансляционные модификации продукта, например профиля его гликозилирования [1].

Препараты данной группы определены как «биоаналогичные (биоподобные), содержащие версию активной фармацевтической субстанции (действующего вещества) зарегистрированного оригинального (референтного) препарата, для которого продемонстрировано сходство (подобие) с оригинальным (референтным) лекарственным препаратом по показателям качества, биологической активности, эффективности и безопасности»¹, а также профилю безопасности и иммуногенности. На международном фармацевтическом рынке количество биоподобных препаратов увеличивается с каждым годом, в настоящее время в мире зарегистрировано более 200 биоаналогичных препаратов [2].

Среди БТЛП доминирующим классом являются моноклональные антитела (МкАТ) из-за высокой специфичности их терапевтического воздействия и длительного периода полувыведения, при этом данная группа включает простые терапевтические МкАТ, модифицированные МкАТ (такие как белки слияния, биспецифичные МкАТ, фрагменты МкАТ) и конъюгированные, содержащие МкАТ и лекарственное средство [3].

МкАТ представляют собой иммуноглобулины (Ig), состоящие из двух легких и двух тяжелых цепей, соединенных дисульфидными связями. В структуре МкАТ выделяют три фрагмента: два антигенсвязывающих Fab-фрагмента, каждый из которых содержит переменные домены легкой и тяжелой цепей, а также константный домен тяжелой цепи, и один Fc-фрагмент, содержащий тяжелые цепи [4]. Fab-фрагмент содержит область, определяющую комплементарность (complementarity-determining region, CDR) связывания с антигеном (АГ) и обеспечивающую специфическое взаимодействие МкАТ с мишенью. Гипервариабельные участки в области CDR позволяют антителу (АТ) распознавать различные эпитопы АГ. Fc-фрагмент молекулы МкАТ участвует в активации клеточных сигнальных путей и имеет решающее значение для проявления антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности [5]. МкАТ могут быть специфичны к различным рецепторам и лигандам иммунокомпетентных и опухолевых клеток, а также растворимым эндогенным медиаторам. В зависимости от происхождения различают химерные, гуманизированные и полностью человеческие МкАТ [6].

Разработка биоаналогичных препаратов МкАТ представляет собой сложный многоступенчатый процесс, на этапах которого должны быть определены и подробно изучены критические параметры качества МкАТ, включая первичную и пространственную структуры, посттрансляционные модификации, изоформы продукта, биологические функции на молекулярном и клеточном уровнях, что необходимо для оценки свойств препаратов при коммерческом производстве [7]. Влияние параметров качества на безопасность и эффективность препарата основано на структурно-функциональной взаимосвязи [8].

При доказательстве биоподобия необходимо проведение исследований по изучению сходства структурных характеристик и функциональных свойств биоаналогичных препаратов

¹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

с референтным препаратом (РП)² [2]. Оценка фармакодинамических свойств и биологической активности МкАТ важна для понимания структурно-функциональных особенностей биоаналогичных препаратов, механизмов их взаимодействия с биологическими мишенями, что формирует основу для установления функциональной сопоставимости с РП [8, 9].

Количественная оценка биологической активности, то есть специфической способности препарата вызывать определенный биологический эффект, является одним из критических показателей качества МкАТ. При этом требование количественного определения специфической биологической активности является ее сравнение с соответствующим стандартным образцом (СО)³.

Цель работы – анализ сведений об актуальности и необходимости разработки международных стандартных образцов (МСО) для определения биологической активности биотерапевтических МкАТ, о роли РП и МСО при оценке сходства/подобия, а также на разных этапах жизненного цикла биоаналогичных препаратов МкАТ.

Особенности оценки биологических свойств препаратов моноклональных антител

Решающее значение для проявления функциональных свойств препаратов МкАТ имеет взаимодействие с АГ, поскольку направленность действия МкАТ осуществляется за счет лигандопосредованного механизма. Для эффективности МкАТ важными являются их связывающая активность, биологические и эффекторные функции [10].

Методы, используемые для изучения функциональной сопоставимости биоаналогичных МкАТ, подразделяются на две основные группы. К первой относятся методы оценки связывания, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA), метод проточной цитофлуориметрии, методы флуоресцентного резонансного переноса энергии и поверхностного плазмонного резонанса, позволяющие охарактеризовать функции, опосредованные структурой МкАТ [11–14]. С помощью перечисленных методов проводится изучение связывания МкАТ с мишенью или с рецепторами клеточной поверхности, такими как FcγR и FcRn,

а также с компонентами системы комплемента для оценки Fc-опосредованной цитотоксичности [15–17]. Методы *in vitro*, наиболее часто применяемые при изучении биологических свойств препаратов МкАТ, представлены в *таблице 1*.

Механизм действия МкАТ в большинстве случаев опосредован процессами, происходящими после связывания лиганда. В связи с этим оценка только связывания не в полной мере отражает эффективность МкАТ. При связывании МкАТ с разными мишенями наблюдается развитие как раннего ответа (активация сигнальных путей), так и позднего ответа (стимуляция или подавление пролиферации чувствительных клеток, выработка цитокинов). В связи с этим активность препарата МкАТ целесообразно оценивать исходя из понимания его механизма действия, используя соответствующие клеточные линии. При этом должен быть определен маркер, отвечающий за развитие раннего или позднего ответа, клеточную адгезию и др., проявление активности которого подавляется при использовании МкАТ [8].

Для оценки биологической активности препаратов МкАТ применяют в основном методики *in vitro* на культурах клеток, отражающие механизм их действия в организме человека, что позволяет оценить взаимодействие МкАТ с соответствующими мишенями [6, 9, 18]. На *рисунке 1* представлены основные механизмы действия терапевтических МкАТ⁴. Наиболее часто в методиках *in vitro* оценивается активность, проявляющаяся посредством таких механизмов, как подавление пролиферации клеток, антителозависимая клеточная цитотоксичность (antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC), комплементзависимая цитотоксичность (complement-dependent cytotoxicity, CDC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP) и апоптоз [8].

Учитывая, что препараты МкАТ имеют сложную структуру с выраженной гетерогенностью (профиль гликозилирования, степень окисления, дезамидирования, заряд и др.), при доказательстве биоподобия необходимо подтверждение того, что выявляемые различия не оказывают влияния на безопасность и эффективность биоаналогичных препаратов. При этом оценка биологической активности в тестах с использованием клеточных культур играет важную роль

² Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CPMP/42832/2005 Rev1). EMA; 2014. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-containing-biotechnology-derived-proteins-active_en-2.pdf

³ Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotechnological products (SBPs), Annex 2, TRS No 1004. WHO; 2017.

⁴ https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/session-1-cmc-innovator-industry-presentation-prof-georg-b-kresse_en.pdf

Таблица 1. Методы *in vitro* для изучения препаратов моноклональных антител при оценке сопоставимости
Table 1. *In vitro* methods for assessing the comparability of mAbs

Методы оценки биологических свойств препаратов МкАТ <i>Methods for assessing biological properties of mAbs</i>	
Оценка связывания <i>Methods to assess binding</i>	Оценка функциональных свойств <i>Methods to assess functional properties</i>
<p>1. Специфическое связывание с мишенью. Методы: проточная цитофлуориметрия, твердофазный ИФА <i>1. Specific binding to targets.</i> <i>Methods: FACS, ELISA</i></p> <p>2. Связывание с рецепторами клеточной поверхности – FcγR (FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, FcγRIIIb), FcRn и системой комплемента (C1q). Методы: ППР, БСИ, РПЭФ <i>2. Binding to cell-surface receptors FcγR (FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, and FcγRIIIb) and FcRn, as well as the complement system (C1q).</i> <i>Methods: SPR, BLI, FRET</i></p>	<p>1. Оценка функций, ассоциированных с Fab-фрагментом: – нейтрализация действия; – активация рецептора; – блокирование рецептора <i>1. Fab-associated functions:</i> – <i>neutralisation of action;</i> – <i>receptor activation;</i> – <i>receptor blockade</i></p> <p>2. Оценка функций, ассоциированных с Fc-фрагментом: – антителозависимая клеточная цитотоксичность; – комплементзависимая цитотоксичность; – активация комплемента <i>2. Fc-associated functions:</i> – <i>antibody-dependent cellular cytotoxicity;</i> – <i>complement-dependent cytotoxicity;</i> – <i>complement activation</i></p>

Таблица составлена авторами по данным [8] / The table is prepared by the authors using data from [8]

Примечание. ИФА – иммуноферментный анализ, FcγR – Fc-гамма-рецептор, FcRn – неонатальный Fc-рецептор, ППР – поверхностный плазмонный резонанс, БСИ – биослойная интерферометрия, РПЭФ – резонансный перенос энергии флуоресценции.

Note. FACS, fluorescence-activated cell sorting; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; FcγR, Fc-gamma receptor; FcRn, neonatal Fc-receptor; SPR, surface plasmon resonance; BLI, bio-layer interferometry; FRET, fluorescence resonance energy transfer.

в установлении такой взаимосвязи и при последующем изучении функциональной сопоставимости с РП [19, 20]. Набор тестов, используемых при изучении сходства биоаналогичного препарата с РП, должен быть подобран с учетом особенностей целевого рецептора/антигена и показания к применению разрабатываемого биоаналогичного МкАТ [8]. Таким образом, набор клеточных тестов для доказательства биоподобия уникален для каждого разрабатываемого биоаналогичного препарата.

Для многих терапевтических МкАТ используются индивидуальные тесты оценки специфической активности [6]. Одним из необходимых условий обеспечения качества БЛП является определение их активности с использованием валидированных методик, а также международного или фармакопейного СО. В течение многих лет после регистрации первых оригинальных препаратов МкАТ указанные СО отсутствовали, поскольку действующие вещества МкАТ, являясь биотехнологическими продуктами, не имеют природного аналога. Поэтому производители разрабатывали внутренние СО предприятия, которые применяли при оценке качества каждого конкретного препарата. При этом отсутствие доступных образцов сравнения, необходимых

для стандартизации биологических методик и аттестации внутренних СО, являлось проблемой для производителей биоаналогичных препаратов [21].

Необходимость разработки международных стандартных образцов для терапевтических моноклональных антител

Концепция биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов в настоящее время достаточно развита и обоснована, доступны современные аналитические методы, собраны многочисленные сведения и получены знания о неоднородности продуктов вследствие различий в технологическом процессе производства референтных и биоаналогичных препаратов [21, 22].

Развитие технических возможностей и нормативной базы для доказательства биоподобия и оценки качества биоаналогичных препаратов способствовало повышению темпов регистрации биоаналогичных МкАТ. В Европейском союзе к 2023 г. зарегистрировано более 40 препаратов⁵ [23], в России на настоящий момент зарегистрировано 19 биоподобных МкАТ⁶ (табл. 2).

⁵ <https://www.gabionline.net/biosimilars/general/biosimilars-approved-in-europe>

⁶ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru/>

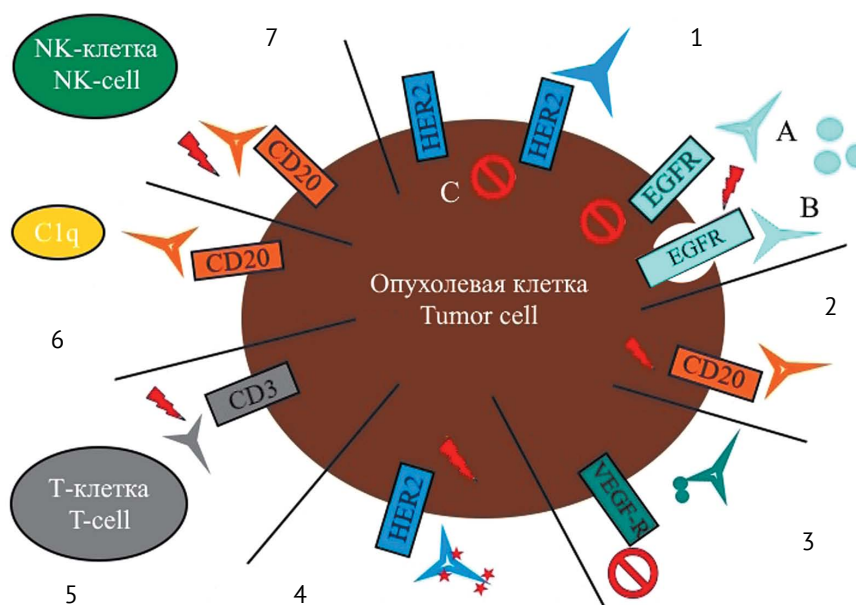


Рисунок подготовлен авторами по материалам EMA⁷ с изменениями / The figure is adapted by the authors from EMA materials⁷

Рис. 1. Механизмы действия препаратов моноклональных антител. 1 – ингибирование передачи сигнала или активации рецептора (А – ингибирование связывания с лигандом, В – индукция интернализации рецептора, С – ингибирование димеризации рецептора); 2 – индукция апоптоза; 3 – блокирование связывания с лигандом; 4 – действие на токсины; 5 – активация Т-клеток; 6 – активация системы комплемента; 7 – активация эффекторных механизмов, антителозависимая клеточная цитотоксичность.

Fig. 1. Mechanisms of action of mAbs. 1, inhibition of signal transduction or receptor activation (A, inhibition of ligand binding; B, induction of receptor internalisation; C, inhibition of receptor dimerisation); 2, induction of apoptosis; 3, blockade of ligand binding; 4, targeting of toxins; 5, activation of T-cells; 6, activation of the complement system; 7, activation of effector mechanisms, antibody-dependent cellular cytotoxicity.

В связи с тем что БЛП не могут быть адекватно охарактеризованы только с помощью физико-химических методов анализа, обеспечение постоянства их биологической активности является важной задачей нормативного регулирования [23]. В отсутствие первичного МСО сравнение различных лицензированных продуктов одного международного непатентованного наименования (МНН) в течение их жизненного цикла не представляется возможным. Учитывая наличие связи между биологической активностью и клинической эффективностью, нельзя исключить риск расхождения в результатах оценки качества и эффективности продуктов, что, в свою очередь, может вызывать опасения, например при рассмотрении вопроса о взаимозаменяемости оригинальных

и биоаналогичных БЛП [21, 24, 25]. В связи с этим выражение активности МкАТ в единицах биологической активности по отношению к независимому стандарту является важным инструментом нормативного регулирования [25].

МСО Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) являются первичными СО и доступны для широкого круга действующих веществ лекарственных препаратов, включая БЛП⁸. Кандидаты в МСО производятся в соответствии с определенными стандартными процедурами, которые оптимизируют сохранение биологической активности и других важных характеристик образцов для повышения их стабильности⁹. После подтверждения пригодности кандидата в рамках международного совместного исследования он утверждается

⁷ https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/session-1-cmc-innovator-industry-presentation-prof-georg-b-kresse_en.pdf

⁸ Providing international biological reference preparations. WHO. https://www.who.int/biologicals/reference_preparations/en/ WHO international standards. NIBSC. https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx

⁹ Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards, Annex 2, TRS No 932. WHO; 2004.

Таблица 2. Биоаналогичные (биоподобные) препараты моноклональных антител, зарегистрированные в Российской Федерации

Table 2. Biosimilar monoclonal antibodies approved in the Russian Federation

№	Референтный препарат (МНН) <i>Reference product (INN)</i>	Метод оценки активности <i>Activity evaluation method</i>	Биоподобный препарат <i>Biosimilar</i>
1	Мабтера® (ритуксимаб) <i>MabThera® (rituximab)</i>	Комплементзависимая цитотоксичность на культуре клеток <i>Complement-dependent cytotoxicity in vitro</i>	Ацеллбия® <i>Acellbia®</i> Реддитукс® <i>Reditux®</i> Ритуксара® <i>Rituxara®</i>
2	Ремикейд® (инфликсимаб) <i>Remicade® (infliximab)</i>	Нейтрализация цитолитического действия TNF-α на культуре клеток <i>Neutralisation of the cytolytic activity of TNF-α in vitro</i>	Фламмегис® <i>Flammegis®</i> Инфликсимаб® <i>Infliximab®</i>
3	Герцептин® (трастузумаб) <i>Herceptin® (trastuzumab)</i>	Подавление пролиферации клеток <i>Inhibition of cell proliferation</i>	Гертикад® <i>Herticad®</i> Тразимера® <i>Trazimera®</i>
4	Авастин® (бевацизумаб) <i>Avastin® (bevacizumab)</i>	Подавление пролиферации эндотелиальных клеток <i>Inhibition of endothelial cell proliferation</i>	Авегра® <i>Avegra®</i> Версаво® <i>Versavo®</i> Бевацизумаб <i>Bevacizumab</i>
5	Хумира® (адалимумаб) <i>Humira® (adalimumab)</i>	Нейтрализация цитолитического действия TNF-α на культуре клеток <i>Neutralisation of the cytolytic activity of TNF-α in vitro</i>	Далибра® <i>Dalibra®</i> Эксемптия® <i>Exemptia®</i>
6	Ксолар® (омализумаб) <i>Xolair® (omalizumab)</i>	Подавление связывания иммуноглобулина E с рецептом (конкурентный ИФА) <i>Suppression of immunoglobulin E binding to the receptor (competitive ELISA)</i>	Генолар® <i>Genolair®</i>
7	Энбрел® (этанерцепт) <i>Enbrel® (etanercept)</i>	Нейтрализация апоптоза, индуцированного TNF-α; подавление биологической активности TNF-α на культуре клеток; количественное определение гена-репортера <i>Neutralisation of TNF-α-induced apoptosis; inhibition of biological activity of TNF-α in vitro; reporter gene quantitation</i>	Этанерцепт ПСК <i>Etanercept PSK</i> Эрелзи® <i>Erelzi®</i>
8	Солирис® (экулизумаб) <i>Soliris® (eculizumab)</i>	Связывание с белком C5 комплемента человека (ИФА) <i>Binding to human complement C5 protein (ELISA)</i>	Элизария® <i>Elizaria®</i> Ацверис® <i>Acveris®</i>
9	Китруда® (пембролизумаб) <i>Keytruda® (pembrolizumab)</i>	Биологический тест на культуре клеток (ИФА) <i>Bioassay in vitro (ELISA)</i>	Пемброриа <i>Pembroria</i>

Таблица составлена авторами по данным Государственного реестра лекарственных средств¹⁰ / The table is prepared by the authors using the data from the State Register of Medicines¹⁰

Примечание. МНН – международное непатентованное наименование, TNF-α – фактор некроза опухоли альфа, ИФА – иммуноферментный анализ.

^a Зарегистрировано два препарата «Инфликсимаб» (АО «БИОКАД», Россия и ООО «Фармапарк», Россия).

Note. INN, international non-proprietary name; TNF-α, tumour necrosis factor alpha; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay.

^a There are two infliximab products approved in Russia (by BIOCAD JSC, Russia, and Pharmapark LLC, Russia).

Экспертным комитетом по биологической стандартизации ВОЗ в качестве МСО. Калибруются МСО в единицах или международных единицах (МЕ) на ампулу, которые назначаются

эмпирически. Используются МСО для валидации и стандартизации биологических тестов и при аттестации вторичных или внутренних СО предприятий [26, 27].

¹⁰ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

В ходе разработки и регистрации оригинальных МкАТ подходящих МСО не существует, и, следовательно, когда на рынке присутствует один новый продукт, его биологическая активность выражается в единицах, предложенных производителем, а регуляторные органы разрешают дозировку и маркировку препарата в единицах массы. Напротив, когда на рынок поступают биоаналогичные МкАТ разных производителей, МСО необходимы для обеспечения согласованного измерения их биологической активности [28]. При наличии на рынке нескольких продуктов, каждый из которых имеет свой жизненный цикл, сохраняется возможность расхождения результатов определения биологической активности как между биоаналогичными препаратами, так и по сравнению с РП. Без применения МСО регуляторные органы не могут ни оценить отклонения активности какого-либо отдельного продукта, ни сравнить результаты оценки активности препаратов одного МНН.

Использование единого СО биологической активности, по которому производители могут аттестовать свои внутренние СО, необходимо для выявления различий при определении активности препаратов, представленных на рынке [25]. Хотя отклонения значений активности могут и не иметь клинических последствий, наличие МСО позволяет как регуляторным органам, так и производителям выявлять проблемы в случае их возникновения, определять их клиническую значимость и принимать меры при необходимости. При этом МСО могут применяться производителями оригинальных и биоаналогичных препаратов как при разработке продуктов, так и после их регистрации [21].

На разных этапах жизненного цикла референтного и биоаналогичных препаратов в процессы их производства возможно внесение изменений. Для биоаналогичного препарата не требуется повторно устанавливать сходство/подобие с РП при проведении исследований сопоставимости после внесения изменений. Однако следует оценить влияние изменений, вносимых в процесс производства, на качество, безопасность и эффективность препаратов¹¹. Необходимо подтвердить, что препараты, изготовленные до и после изменения процесса производства, являются сопоставимыми, то есть свойства препарата, полученного после внесения изменений, по основным показателям качества, безопасности и эффективности не отличаются от исходного. При подтверждении сопоставимости необходимо изучение

физико-химических и биологических свойств продуктов [29]. Наличие и применение МСО для МкАТ как СО, оптимизированных для биологических тестов, повышает обоснованность результатов оценки сопоставимости.

Важно, что наличие МСО позволяет проводить независимый анализ результатов оценки биологической активности биоаналогичных препаратов во всем мире [30]. В более широком смысле применение МСО будет способствовать внедрению единых стандартов качества для производства и регистрации безопасных и эффективных БТЛП.

Роль референтных лекарственных препаратов и международных стандартных образцов на разных этапах жизненного цикла моноклональных антител

Несмотря на очевидную значимость МСО при оценке активности и их успешное применение для обеспечения качества биологических лекарственных средств, внедрение в практику МСО для терапевтических МкАТ вызвало ряд вопросов, обусловленных недопониманием роли РП и МСО в жизненном цикле биоаналогичных МкАТ [21]. В ряде публикаций подчеркивается, что внедрение МСО не отменяет применение РП при доказательстве биоподобия и не приводит к изменению дозировок зарегистрированных препаратов в единицах массы [21, 25, 26].

На этапах разработки и производства оригинальных и биоаналогичных МкАТ при изучении их свойств и контроле качества используются СО, а для биоаналогичных препаратов необходимо также проведение сравнительных исследований для доказательства сходства/подобия РП с установленным профилем клинической безопасности и эффективности [26]. В процессе создания оригинальных препаратов МкАТ при разработке биологических тестов в качестве промежуточных СО используются партии продуктов, полученные на ранних этапах разработки. Для биоподобных МкАТ при разработке используются серии РП, а на последующих этапах при контроле качества продукта в качестве промежуточных СО уже применяются охарактеризованные партии биоаналогичного продукта. Впоследствии промежуточный СО заменяется первичным СО, который представляет собой хорошо охарактеризованную партию препарата, применяемую в клинических исследованиях, используемую для аттестации рабочих СО, необходимых при рутинном выпуске серий и тестировании

¹¹ ICH Q5E Comparability of Biotechnological/Biological Products; 2005.

стабильности. Производители присваивают единицы биологической активности первичным СО, чтобы обеспечить постоянство характеристик и прослеживаемость оценки критических показателей качества продуктов [31].

При оценке активности биоаналогичных МкАТ в качестве СО не применяется РП, поскольку значение активности РП не выражено в официально признанных единицах (МЕ), а каждый флакон РП содержит количество МкАТ с определенной биологической активностью, которое находится в пределах нормированного диапазона. Это исключает возможность использования РП в качестве СО [21].

Следует отметить, что МСО ВОЗ не является лекарственным средством и не предназначен для использования при оценке биоподобия, в маркировке продукта или в определении терапевтической дозировки для пациентов [28]. МСО производится в соответствии с определенными спецификациями согласно рекомендациям ВОЗ, имеет присвоенную биологическую активность в МЕ на ампулу (содержание указано как номинальное значение), используется при определении активности в МЕ и для аттестации СО производителей [25, 26]. Относительно соответствующих МСО регуляторными органами и производителями возможно отслеживание показателей биологической активности как между продуктами и сериями продуктов, так и во времени – в течение продолжительных временных периодов. Определение активности с использованием биологических методов является одним из критических аспектов при серийном выпуске препаратов МкАТ, и в соответствии с международными требованиями необходимо использование общедоступных СО для стандартизации биологических методов¹². Таким образом, МСО активности препаратов МкАТ необходимы для выполнения современных нормативных требований.

Известно, что биоподобие подтверждается результатами оценки сходства биоаналогичного препарата с РП, при этом МСО можно использовать для валидации биотестов, применяемых на разных этапах разработки и производства биоаналогичных МкАТ, включая те, которые используются при изучении биоподобия. Кроме того, при оценке биологической активности МкАТ в МЕ, МСО является первичным стандартом для стандартизации биотестов и аттестации вторичных СО, что позволяет сравнивать результаты оценки активности, полученные как в разных лабораториях, так и между продуктами одного

МНН во всем мире. Это, в свою очередь, будет способствовать повышению уверенности в том, что пациенты получают сопоставимые дозы препаратов МкАТ разных производителей. Таким образом, роль МСО заключается и в согласовании данных об эффективности терапевтических МкАТ [21, 26].

Кроме того, применение МСО важно в ситуациях, когда активность МкАТ опосредована несколькими механизмами действия. Это необходимо учитывать при разработке биотестов, обосновании спецификаций, установлении показаний к клиническому применению и оценке того, возможна ли экстраполяция данных об эффективности биоаналогичного препарата на другие показания к применению. Обычно МСО МкАТ присваивают единицы биологической активности, обусловленной разными механизмами. В связи с этим применение МСО позволяет облегчить оценку потенциального расхождения данных о биологической активности нескольких препаратов МкАТ, для которых она обусловлена одним из следующих механизмов действия: CDC, ADCC, связывающая и нейтрализующая активность. При отсутствии МСО эти сравнения невозможны, поскольку имеющиеся данные будут выражены либо в единицах массы, либо в единицах биологической активности производителя, которые зависят либо от уникальной специфической активности продукта, либо от СО производителя соответственно [21].

Таким образом, РП и МСО выполняют разные роли при проведении разработки, доказательстве сходства/подобия и оценке качества биоаналогичных МкАТ.

Особенности разработки международных стандартных образцов

МСО выпускаются в относительно небольших количествах (несколько тысяч ампул) и используются для аттестации вторичных СО, таких как СО Европейской или Американской фармакопеи, или рабочих (внутренних) СО производителей [26]. МСО не являются продуктами для медицинского применения, но для их разработки применяют партии продуктов, используемых в клинических исследованиях. Далее образцы-кандидаты в МСО проходят стадии изменения состава компонентов (при необходимости) и лиофилизации в соответствии с рекомендациями ВОЗ с целью получения стабильного продукта, который будет соответствовать назначению в течение длительного времени (для некоторых МСО в течение десятилетий). Следует

¹² Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotherapeutic products (SBPs), Annex 2, TRS No 1004. WHO; 2017.

отметить, что нет требований относительно того, чтобы кандидат в МСО был разработан на основе оригинального препарата. Как правило, в исследованиях по разработке МСО используют образцы от производителей как оригинальных, так и биоаналогичных препаратов¹³ [28].

Пригодность заявляемых кандидатов в МСО оценивается в международных многоцентровых исследованиях, участники которых для характеристики СО используют соответствующие биотесты, в которых подтверждается, что кандидат проявляет сопоставимое действие по сравнению с другими соответствующими препаратами, такими как внутренние СО производителей и партии зарегистрированных продуктов одного МНН [26]. Анализ данных в этих исследованиях основывается на установлении границ эквивалентности, и согласованные критерии применяются к результатам испытаний, полученным во всех лабораториях. Биологическая активность международного СО выражается в производных МЕ [28].

Необходимым условием при разработке МСО является подтверждение стабильности образца в течение длительного периода времени. МСО не имеют установленного срока годности, однако необходимо подтверждение их стабильности и оценка уровня снижения активности при хранении в условиях ускоренного старения. Ампулы с кандидатом в МСО хранят при повышенных температурах, биологическую активность оценивают по сравнению с образцом, хранящимся при температуре минус 70 °С. Любые прогнозируемые ежегодные изменения активности указываются в инструкции по применению СО [26, 32].

МСО ВОЗ содержат действующие вещества в незначительных количествах (мкг) и для поддержания показателей стабильности в течение длительного времени выпускаются в лиофилизированной форме в запаянных стеклянных ампулах [32].

Международные стандартные образцы для препаратов моноклональных антител

Целесообразность создания МСО активности препаратов МкАТ обусловлена необходимостью

их применения в следующих ситуациях: в качестве СО для оценки биологической активности; при валидации методик; для аттестации национальных, фармакопейных или внутренних СО; для обеспечения надзора за качеством препаратов в течение их жизненного цикла; для разработки новых методов оценки биологической активности¹⁴.

В настоящее время разработаны и утверждены МСО ВОЗ¹⁵, предназначенные для использования в биологических тестах при определении специфической активности препаратов МкАТ (табл. 3).

В отчетах о результатах международных исследований по разработке и изучению МСО этанерцепта, ритуксимаба, инфликсимаба, адалимумаба, бевацизумаба, трастузумаба¹⁶ и цетуксимаба¹⁷ отмечается, что применение в соответствующих биологических тестах препаратов-кандидатов в МСО, в отличие от внутренних СО производителей, способствовало гармонизации оценки биологической активности между лабораториями даже при использовании нескольких методик, основанных на разных принципах [25, 28, 32–34].

Международный стандартный образец активности этанерцепта

Этанерцепт представляет собой белок слияния, состоящий из двух белков, кодируемых разными генами – рецептора фактора некроза опухоли человека (TNFR2/p75) и Fc-рецептора IgG1 человека [35]. Этанерцепт действует как конкурентный ингибитор фактора некроза опухоли альфа (tumour necrosis factor alpha, TNF-α), предотвращая его связывание с рецепторами клеточной поверхности, тем самым способствуя снижению активности TNF-α. Этанерцепт перспективен при лечении аутоиммунных заболеваний и воспалительных процессов, связанных с повышенным уровнем TNF-α [36].

Истечение срока действия патента на РП этанерцепта (Энбрел®) и интенсивная разработка биоаналогичных препаратов предопределили потребность в МСО для определения их активности. В многоцентровом исследовании с участием 28 лабораторий из 15 стран изучались три препарата-кандидата этанерцепта в качестве

¹³ WHO international standards. NIBSC. https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx

¹⁴ Report of a WHO informal consultation on international standards for biotherapeutic products. TRS No 999. WHO; 2016.

¹⁵ https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/sub_category_listing.aspx?category=Biotherapeutics&subcategory=Monoclonal+Antibodies

¹⁶ Report on a Collaborative Study for Proposed Candidate 1st International Standard for the biological activities of Trastuzumab (WHO/BS/2020.2401). WHO; 2020.

¹⁷ Report on a collaborative study for Proposed Candidate 1st International Standard for the biological activities of Cetuximab (WHO/BS/2022.2429 Rev). WHO; 2022.

Таблица 3. Доступные международные стандартные образцы ВОЗ для препаратов моноклональных антител
Table 3. Available WHO international standards for mAbs

№	Международные стандарты <i>International standards</i>	Код <i>Code</i>	Год <i>Year</i>
1	Белок слияния рецептора TNF-α и Fc-рецептора 10000 МЕ/ампула <i>TNF-α receptor II Fc fusion protein</i> 10000 IU/ampoule	13/204	2016
2	Ритуксимаб 1000 МЕ/ампула для оценки комплементзависимой цитотоксической активности 1000 МЕ/ампула для оценки антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксической активности 1000 МЕ/ампула для оценки клеточносвязывающей активности 1000 МЕ/ампула для оценки апоптотической активности <i>Rituximab</i> 1000 IU/ampoule to assess complement-dependent cytotoxic activity 1000 IU/ampoule to assess antibody-dependent cell-mediated cytotoxic activity 1000 IU/ampoule to assess cell-binding activity 1000 IU/ampoule to assess apoptotic activity	14/210	2017
3	Инфликсимаб 500 МЕ/ампула для оценки нейтрализующей активности TNF-α 500 МЕ/ампула для оценки активности связывания TNF-α <i>Infliximab</i> 500 IU/ampoule to assess tumour necrosis factor-alpha (TNF-α) neutralising activity 500 IU/ampoule to assess TNF-α binding activity	16/170	2019
4	Адалимумаб 500 МЕ/ампула для оценки нейтрализующей активности TNF-α 500 МЕ/ампула для оценки активности связывания TNF-α 500 МЕ/ампула для оценки активности антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксической активности 500 МЕ/ампула для оценки активности комплементзависимой цитотоксической активности <i>Adalimumab</i> 500 IU/ampoule to assess TNF-α neutralising activity 500 IU/ampoule to assess TNF-α binding activity 500 IU/ampoule to assess complement-dependent cytotoxic activity 500 IU/ampoule to assess antibody-dependent cell-mediated cytotoxic activity	17/236	2019
5	Бевацизумаб 1000 МЕ/ампула для оценки нейтрализующей активности фактора роста эндотелия сосудов 165 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания фактора роста эндотелия сосудов 165 <i>Bevacizumab</i> 1000 IU/ampoule to assess vascular endothelial growth factor 165 (VEGF 165) neutralising activity 1000 IU/ampoule to assess VEGF 165 binding activity	18/210	2020
6	Трастузумаб 1000 МЕ/ампула для оценки активности подавления пролиферации 1000 МЕ/ампула для оценки антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксической активности 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания HER2 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания FcγRIIIa 1000 МЕ/ампула для оценки активности антителозависимого клеточно-опосредованного фагоцитоза <i>Trastuzumab</i> 1000 IU/ampoule to assess inhibition of proliferation (IOP) activity 1000 IU/ampoule to assess antibody-dependent cell-mediated cytotoxic activity 1000 IU/ampoule to assess HER2-binding activity 1000 IU/ampoule to assess FcγRIIIa-binding activity 1000 IU/ampoule to assess antibody-dependent cell-mediated phagocytosis activity	19/108	2021
7	Цетуксимаб 1000 МЕ/ампула для оценки активности подавления пролиферации 1000 МЕ/ампула для оценки активности антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксической активности 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания рецептора эпидермального фактора роста EGFR 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания FcγRIIIa(V158) 1000 МЕ/ампула для оценки активности связывания FcγRI <i>Cetuximab</i> 1000 IU/ampoule to assess IOP activity 1000 IU/ampoule to assess antibody-dependent cell-mediated cytotoxic activity 1000 IU/ampoule to assess epidermal growth factor receptor (EGFR) binding activity 1000 IU/ampoule to assess FcγRIIIa(V158) binding activity 1000 IU/ampoule to assess FcγRI binding activity	21/170	2022

Таблица составлена авторами по данным NIBSC¹⁸ / The table is prepared by the authors using NIBSC data¹⁸

¹⁸ https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/sub_category_listing.aspx?category=Biotherapeutics&subcategory=Monoclonal+Antibodies

первого МСО. В задачи исследования входило установление единиц измерения биологической активности МСО в биотестах *in vitro* и определение концентраций этанерцепта, необходимых для нейтрализации TNF- α (третий МСО TNF- α , NIBSC код: 12/154). Нейтрализующая активность этанерцепта по отношению к МСО TNF- α оценивалась в различных тестах *in vitro* (цитотоксичность, апоптоз и анализ репортерного гена). Результаты оценки активности и стабильности препаратов-кандидатов А и В показали их сопоставимость. В качестве первого МСО активности этанерцепта выбран кандидат В [32]. В 2016 г. утвержден первый МСО ВОЗ для этанерцепта (NIBSC код: 13/204) с присвоенным значением биологической активности *in vitro* 10000 МЕ на ампулу¹⁹.

Международный стандартный образец активности ритуксимаба

Ритуксимаб – химерное МкАТ, молекула которого содержит переменные фрагменты легких и тяжелых цепей Ig мыши. Ритуксимаб специфически взаимодействует с CD20, экспрессирующимся на пре-В-лимфоцитах и зрелых В-лимфоцитах при В-клеточных неходжкинских лимфомах, и применяется при лечении CD20⁺ В-клеточных лимфопролиферативных злокачественных новообразований, аутоиммунных заболеваний и реакции отторжения трансплантата²⁰. Ритуксимаб оказывает действие, связываясь с CD20⁺ на В-лимфоцитах непосредственно или путем взаимодействия Fc-рецептора с клетками-эффекторами, что приводит к лизису В-клеток за счет реализации механизмов CDC и ADCC [37, 38]. Ритуксимаб включен в перечень основных лекарственных средств ВОЗ²¹.

В многоцентровом международном исследовании с участием 16 лабораторий проводилась оценка трех лиофилизированных образцов (препараты-кандидаты А и В и РП Мабтера®) в качестве первого МСО активности ритуксимаба с использованием собственных валидированных биологических методик и внутренних СО. Основным тестом в исследовании являлся CDC, однако оценивались и другие виды биологической активности ритуксимаба: тест CDC выполнен в 16 лабораториях, тест ADCC – в 11, тест оценки активности связывания – в 5, тест индукции апоптоза – в 1 [21]. Результаты оценки

активности препаратов-кандидатов были сопоставимы несмотря на то, что участвующие лаборатории использовали разные методики. При этом наблюдалась высокая вариабельность результатов, полученных в отдельных лабораториях при применении внутренних СО, что, по-видимому, отражает различия между внутренними СО участников исследования и общее отсутствие гармонизации в подходах к оценке активности. Наличие указанных различий подчеркивает необходимость разработки общедоступного СО, применение которого будет способствовать стандартизации биологических методик, в том числе при аттестации СО производителей, а также обеспечит прослеживаемость результатов оценки активности, выражаемой в МЕ [21].

В 2017 г. утвержден первый МСО ВОЗ ритуксимаба (NIBSC код: 14/210) с присвоенным значением биологической активности на ампулу: 1000 МЕ активности CDC, 1000 МЕ активности ADCC, 1000 МЕ активности связывания и 1000 МЕ апоптотической активности²².

Международный стандартный образец активности инфликсимаба

Инфликсимаб – химерное МкАТ, обладающее высоким аффинитетом к TNF- α , играющим ключевую роль в развитии многих аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит, болезнь Крона, язвенный колит и др.). Механизм действия препарата опосредован его связыванием с растворимым и мембранным TNF- α [39]. Инфликсимаб был первым МкАТ против TNF- α , одобренным для применения у человека (РП – Ремикейд®). Учитывая количество лекарственных препаратов инфликсимаба на фармацевтическом рынке, ВОЗ признала необходимость гармонизации подходов к оценке биологической активности данного МкАТ [28].

В международном исследовании с участием 26 лабораторий из 15 стран оценивалась пригодность в качестве МСО активности инфликсимаба двух лиофилизированных препаратов-кандидатов (А и В) с различным составом. Участники исследования определяли биологическую активность кандидатов, используя внутренние СО и валидированные методики *in vitro* (нейтрализация действия TNF- α на чувствительные клетки, ADCC, CDC, активность связывания с TNF- α), в качестве TNF- α применяли третий МСО TNF- α (NIBSC код:

¹⁹ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/13-204.pdf>

²⁰ https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/mabthera-epar-scientific-discussion_en.pdf

²¹ The selection and use of essential medicines 2023. Executive Summary of the report of the 24th WHO Expert Committee on Selection and Use of Essential Medicines. WHO; 2023. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371291/WHO-MHP-HPS-EML-2023.01-eng.pdf?sequence=1>

²² <https://www.nibsc.org/documents/ifu/14-210.pdf>

12/154). Учитывая, что кандидаты являлись образцами биоаналогичного препарата инфликсимаба, состав образца партии РП (Ремикейд®) был изменен аналогично кандидатам и включен в исследование в качестве препарата сравнения (NIBSC код: 16/160) для подтверждения отсутствия различий в характеристиках между субстанцией и лекарственным препаратом после изменения состава и лиофилизации [28]. По результатам исследования кандидат А утвержден в качестве первого МСО ВОЗ для определения биологической активности инфликсимаба (NIBSC код: 16/170) с присвоенным значением на ампулу 500 МЕ для нейтрализующей активности TNF- α и 500 МЕ для активности связывания TNF- α ²³.

Международный стандартный образец активности адалимумаба

Адалимумаб – первое в мире полностью человеческое терапевтическое МкАТ IgG1 (РП – Хумира®), которое специфически связывается как с мембраносвязанной, так и с растворимой формами TNF- α , блокируя взаимодействие TNF- α с его рецепторами (TNFR1/p55 и TNFR2/p75), и модулирует активность сигнального каскада, запускаемого TNF- α . Считается, что адалимумаб может оказывать воздействие на различные звенья патогенеза системных иммуноопосредованных заболеваний: при ревматоидном артрите препарат нейтрализует действие растворимого TNF- α , а при воспалительных заболеваниях кишечника, таких как болезнь Крона и язвенный колит, взаимодействие адалимумаба с мембраносвязанной формой TNF- α может вызвать ряд биологических эффектов – изменение уровня молекул адгезии, подавление секреции цитокинов и индукция апоптоза.

Проявление активности адалимумаба может быть обусловлено и Fc-опосредованными механизмами, такими как ADCC и CDC [33, 40]. Следует отметить, что, несмотря на достижение клинического эффекта при применении препарата, имеются опасения по поводу нежелательной иммуногенности и снижения эффективности, которые отмечены для других ингибиторов TNF- α [41].

В многоцентровом международном исследовании с участием 26 лабораторий из 13 стран изучалась пригодность двух лиофилизированных препаратов-кандидатов (образцы А и В) в качестве МСО адалимумаба. Определение активности препаратов-кандидатов и внутренних СО проводилось с применением валидированных методик: теста по оценке нейтрализации

действия TNF- α , используемого при серийном выпуске препаратов, и биотестов для определения других видов активности, опосредованной действием МкАТ. Оценку нейтрализации действия TNF- α изучали с помощью трех методик [28, 32], в том числе по уровню подавления цитотоксического эффекта, индуцированного TNF- α , на клеточных линиях мышечных фибробластов (L929) и фибросаркомы (WEHI-164, WEHI-164 13VAR) [42, 43]. Для определения активности адалимумаба применяли анализ репортерного гена в тесте подавления TNF-стимулированной активации фактора транскрипции NF- κ B, оцениваемой путем измерения активности люциферазы или секретированной эмбриональной щелочной фосфатазы в клетках линии HEK-293, трансфицированной конструкциями репортерного гена. Ингибирование апоптоза, опосредованного TNF- α , оценивали путем изучения активности каспаз в клетках линии U937 [33, 44]. Для оценки Fc-эффекторной функции адалимумаба в исследование были включены тесты CDC и ADCC [33].

По результатам определения активности образца А и оценки стабильности (хранение при повышенных температурах в течение 15 мес.) его пригодность в качестве МСО ВОЗ была подтверждена для определения биологической активности адалимумаба. В 2019 г. утвержден первый МСО ВОЗ (NIBSC код: 17/236) с присвоенным значением 500 МЕ для каждого вида биологической активности (связывание, нейтрализация TNF- α , CDC и ADCC)²⁴.

Международный стандартный образец активности бевацизумаба

Бевацизумаб – гуманизированное МкАТ IgG1 κ , Fab-фрагмент которого с высокой аффинностью связывается с растворимым фактором роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), блокируя взаимодействие VEGF с рецептором (VEGFR2) на эндотелиальных клетках и нарушая передачу сигналов, необходимую для индукции ангиогенеза [45, 46]. Препарат, нейтрализуя действие VEGF, снижает неоваскуляризацию опухоли и ингибирует ее рост, а также подавляет патологический ангиогенез и гиперпроницаемость сосудов [33]. Является первым антиангиогенным БТЛП (РП – Авастин®). В настоящее время несколько препаратов бевацизумаба одобрены для клинического применения, многие находятся на поздней стадии клинической разработки.

²³ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/16-170.pdf>

²⁴ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/17-236.pdf>

В рамках многоцентрового международного исследования оценена пригодность двух препаратов-кандидатов (А и В) в качестве первого МСО ВОЗ активности бевацизумаба. Для тестирования кандидатов участники исследования применяли собственные валидированные методики, оценивающие механизм действия МкАТ, такие как подавление VEGF-стимулированной пролиферации первичных эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) и VEGF-индуцированный ответ клеточных линий, чувствительных к VEGF. Клеточная линия HUVEC является моделью для изучения функций VEGF, инициируемых связыванием с VEGFR2 на поверхности клеток, с последующей димеризацией и фосфорилированием рецепторов, активацией сигнальных путей, стимулирующих процесс пролиферации клеток [33, 47, 48]. Показано, что при использовании кандидата А отмечена более низкая вариабельность результатов оценки активности, что позволило заключить, что данный кандидат подходит для использования в качестве МСО для бевацизумаба с присвоенными единицами активности нейтрализации и связывания VEGF. При изучении стабильности кандидата А (в условиях ускоренного старения в течение 11 мес.) не выявлено потери активности, что указывает на то, что кандидат сохраняет достаточный уровень стабильности в течение длительного времени [33]. В 2020 г. кандидат А (NIBSC код: 18/210) утвержден в качестве первого МСО ВОЗ для определения биологической активности бевацизумаба *in vitro* с присвоенными значениями на ампулу: 1000 МЕ для нейтрализующей активности VEGF165 и 1000 МЕ для связывающей активности VEGF165²⁵ [34].

Международный стандартный образец активности трастузумаба

Трастузумаб – гуманизированное МкАТ IgG1κ, которое связывается с рецептором эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER2) и предотвращает опосредованную рецептором последующую передачу сигналов, результатом чего является подавление роста

и пролиферации опухолевых клеток [49–51]. Противоопухолевое действие трастузумаба также обусловлено и другими механизмами [52], в том числе подавлением экспрессии HER2, а также эффекторными функциями, опосредованными Fc-рецептором, такими как ADCC, посредством взаимодействия с FcγR на миелоидных клетках, подавление ангиогенеза [52, 53]. Трастузумаб (РП – Herceptin®) применяется для лечения рака молочной железы и желудка с высоким уровнем экспрессии HER2, что значительно повышает уровень частоты ответа и выживаемости на ранней стадии заболеваний²⁶. Трастузумаб включен в перечень основных лекарственных средств ВОЗ²⁷. В настоящее время 5 биоаналогичных препаратов одобрены для медицинского применения, около 30 препаратов находятся в стадии разработки [27].

Биологическую активность трастузумаба при выпуске серий оценивают по его влиянию на пролиферативную активность соответствующих клеток, а тест ADCC и связывание трастузумаба с рецепторами HER2, FcγR и FcRn используются для расширенной характеристики продукта.

В международном совместном исследовании проводилось определение значения активности препарата-кандидата в МСО (NIBSC код: 19/108) с использованием различных методов²⁸ [49]. Образец кандидата подготовлен в соответствии со стандартными процедурами (изменение его состава и лиофилизация)²⁹. Активность препарата-кандидата была протестирована *in vitro* с применением валидированных методик, таких как: оценка подавления пролиферативной активности, ADCC, оценка антителозависимого клеточно-опосредованного фагоцитоза, клеточного и неклеточного связывания с рецепторами HER2 и FcγRIIIa³⁰. Оценка стабильности кандидата проведена в условиях ускоренного старения при повышенных температурах. Результаты оценки активности и стабильности препарата-кандидата показали, что он подходит для использования в качестве МСО активности трастузумаба³¹. Первый МСО ВОЗ активности трастузумаба (NIBSC код: 19/108) утвержден со

²⁵ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/18-210.pdf>

²⁶ https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/herceptin-h-c-278-x-0060-epar-assessment-report-extension_en.pdf/

²⁷ The selection and use of essential medicines 2023. Executive Summary of the report of the 24th WHO Expert Committee on Selection and Use of Essential Medicines. WHO; 2023. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/371291/WHO-MHP-HPS-EML-2023.01-eng.pdf?sequence=1>

²⁸ Report on a Collaborative Study for Proposed Candidate 1st International Standard for the biological activities of Trastuzumab (WHO/BS/2020.2401). WHO; 2020.

²⁹ https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx

³⁰ https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/herceptin-h-c-278-x-0060-epar-assessment-report-extension_en.pdf/

³¹ Report on a Collaborative Study for Proposed Candidate 1st International Standard for the biological activities of Trastuzumab (WHO/BS/2020.2401). WHO; 2020.

следующими присвоенными значениями биологической активности *in vitro* на ампулу: 1000 МЕ активности подавления пролиферации; 1000 МЕ активности ADCC; 1000 МЕ активности связывания HER2; 1000 МЕ активности связывания FcγRIIIa; 1000 МЕ активности ADCP³².

Международный стандартный образец активности цетуксимаба

Цетуксимаб – химерное МкАТ IgG1, которое связывается с внеклеточным доменом рецептора эпидермального фактора роста человека (epidermal growth factor receptor, EGFR). Цетуксимаб конкурирует с эндогенным эпидермальным фактором роста (EGF) и трансформирующим фактором роста (TGF-α), способствуя подавлению передачи сигнала EGFR и предотвращению пролиферации клеток [54]. Один из механизмов действия цетуксимаба реализуется за счет Fc-эффекторных функций посредством ADCC благодаря взаимодействию с FcγR на миелоидных клетках [55, 56]. Цетуксимаб является одним из первых биотерапевтических МкАТ (РП – Эрбитукс®), одобренных для медицинского применения (лечение колоректальных опухолей и плоскоклеточного рака головы и шеи с гиперэкспрессией EGFR) [57].

В международном многоцентровом исследовании с участием 22 лабораторий из 12 стран пригодность препарата-кандидата цетуксимаба для использования в качестве МСО ВОЗ оценивалась для различных видов биологической активности (подавление пролиферации клеток, связывание EGFR и анализ ADCC). В тестах оценки активности использовали различные линии клеток-мишеней, экспрессирующих EGFR, различные эффекторные клетки, а также применяли неклеточные методики³³. Препарат-кандидат в МСО был подготовлен в соответствии со стандартными процедурами³⁴ из серии препарата Эрбитукс®, произведенной для клинического применения. На основании результатов исследования препарат-кандидат цетуксимаба был признан подходящим для использования в качестве первого МСО ВОЗ для биологической активности цетуксимаба *in vitro* (NIBSC код: 21/170) и утвержден с присвоенным значением на ампулу: 1000 МЕ активности подавления пролиферации, 1000 МЕ активности ADCC, 1000 МЕ активности связывания EGFR, 1000 МЕ активности связывания FcγRIIIa(V158) и 1000 МЕ активности связывания FcγRI³⁵.

Заключение

Проведенный анализ результатов разработки международных стандартных образцов для оценки биологической активности ряда препаратов моноклональных антител позволяет заключить, что создание и утверждение первых международных стандартных образцов ВОЗ и их эффективное использование производителями во всем мире будет способствовать не только обеспечению и гарантии качества препаратов моноклональных антител, но и клиническому мониторингу эффективности их применения.

Международные стандартные образцы в роли общедоступных первичных стандартов необходимы в первую очередь для аттестации вторичных стандартных образцов (национальных, внутренних) и могут служить инструментом мониторинга их стабильности. В рамках гармонизации подходов к оценке специфической биологической активности между лабораториями применение международных стандартных образцов при согласовании уровня активности продуктов одного международного непатентованного наименования разных производителей будет способствовать повышению качества и безопасности биоаналогичных препаратов. Важен аспект использования международных стандартных образцов при контроле изменений активности как оригинальных, так и биоаналогичных препаратов при управлении их жизненным циклом.

Таким образом, международные стандартные образцы для определения биологической активности лекарственных препаратов на основе моноклональных антител являются важным дополнением к инструментам, доступным для обеспечения согласованности в оценке эффективности различных версий одного и того же продукта. Это является ключевым моментом при обсуждении взаимозаменяемости биотехнологических лекарственных средств. Создание международных стандартных образцов моноклональных антител может облегчить надзор за качеством препаратов, а также может быть полезным регуляторным органом для гармонизации подходов к оценке активности многочисленных лекарственных препаратов, присутствующих на фармацевтическом рынке.

³² <https://www.nibsc.org/documents/ifu/19-108.pdf>

³³ Report on a collaborative study for Proposed Candidate 1st International Standard for the biological activities of Cetuximab (WHO/BS/2022.2429 Rev). WHO; 2022.

³⁴ https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx

³⁵ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/21-170.pdf>

Литература/References

1. Le Basle Y, Chennell P, Tokhadze N, Astier A, Sautou V. Physicochemical stability of monoclonal antibodies: a review. *J Pharm Sci.* 2020;109(1):169–90.
<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.08.009>
2. Nupur N, Joshi S, Gulliarne D, Rathore AS. Analytical similarity assessment of biosimilars: global regulatory landscape, recent studies and major advancements in orthogonal platforms. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:832059.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.832059>
3. Авдеева ЖИ, Солдатов АА, Алпатова НА, Медуницын НВ, Бондарев ВП, Миронов АН и др. Лекарственные препараты моноклональных антител нового поколения (проблемы и перспективы). *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2015;(1):21–35.
Avdeeva ZhI, Soldatov AA, Alpatova NA, Medunitsyn NV, Bondarev VP, Mironov AN, et al. Preparations of next generation monoclonal antibodies (issues and prospects). *Biopreparation (Biopharmaceuticals).* 2015;(1):21–35 (In Russ.).
EDN: [UBEKGD](#)
4. Lee CC, Perchiacca JM, Tessier PM. Toward aggregation-resistant antibodies by design. *Trends Biotechnol.* 2013;31(11):612–20.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.07.002>
5. Alhazmi HA, Albratty M. Analytical techniques for the characterization and quantification of monoclonal antibodies. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(2):291.
<https://doi.org/10.3390/ph16020291>
6. Алпатова НА, Гайдерова ЛА, Яковлев АК, Мотузова ЕВ, Лысикова СЛ, Солдатов АА и др. Особенности определения специфической активности биотехнологических лекарственных средств. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2017;17(1):13–26.
Alpatova NA, Gayderova LA, Yakovlev AK, Motuzova EV, Lysikova SL, Soldatov AA et al. Assessment of biotechnological products' specific activity. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2017;17(1):13–26 (In Russ.).
EDN: [YHSSGL](#)
7. Mimura Y, Katoh T, Saldova R, O'Flaherty R, Izumi T, Mimura-Kimura Y, et al. Glycosylation engineering of therapeutic IgG antibodies: challenges for the safety, functionality and efficacy. *Protein Cell.* 2018;9(1):47–62.
<https://doi.org/10.1007/s13238-017-0433-3>
8. Dash R, Singh SK, Chirmule N, Rathore AS. Assessment of functional characterization and comparability of biotherapeutics: a review. *AAPS J.* 2021;24(1):15.
<https://doi.org/10.1208/s12248-021-00671-0>
9. Láng JA, Balogh ZC, Nyitrai MF, Juhász C, Gilicze AKB, Iliás A, et al. *In vitro* functional characterization of biosimilar therapeutic antibodies. *Drug Discov Today Technol.* 2020;37:41–50.
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2020.11.010>
10. Wang X, An Z, Luo W, Xia N, Zhao Q. Molecular and functional analysis of monoclonal antibodies in support of biologics development. *Protein Cell.* 2018;9(1):74–85.
<https://doi.org/10.1007/s13238-017-0447-x>
11. Wild D, ed. *The immunoassay handbook: theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques.* 4th ed. Elsevier Science; 2013.
12. Lebakken CS, Riddle SM, Singh U, Frazee WJ, Eliason HC, Gao Y, et al. Development and applications of a broad-coverage, TR-FRET-based kinase binding assay platform. *J Biomol Screen.* 2009;14(8):924–35.
<https://doi.org/10.1177/1087057109339207>
13. Noto A, Ngauv P, Trautmann L. Cell-based flow cytometry assay to measure cytotoxic activity. *J Vis Exp.* 2013;82:e51105.
<https://doi.org/10.3791/51105>
14. Schasfoort RBM. *Handbook of surface plasmon resonance.* 2nd ed. RSC Publishing; 2017.
<https://doi.org/10.1039/9781788010283>
15. Beyer B, Schuster M, Jungbauer A, Lingg N. Microheterogeneity of recombinant antibodies: analytics and functional impact. *Biotechnol J.* 2018;13(1).
<https://doi.org/10.1002/biot.201700476>
16. Rosales C. Fcγ receptor heterogeneity in leukocyte functional responses. *Front Immunol.* 2017;8:280.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00280>
17. Branstetter E, Duff RJ, Kuhns S, Padaki R. Fc glycan sialylation of biotherapeutic monoclonal antibodies has limited impact on antibody-dependent cellular cytotoxicity. *FEBS Open Bio.* 2021;11(11):2943–9.
<https://doi.org/10.1002/2211-5463.13267>
18. Velasco-Velázquez MA, Salinas-Jazmín N, Hisakita E, Cobos-Puc L, Xolalpa W, González G, et al. Extensive preclinical evaluation of an infliximab biosimilar candidate. *Eur J Pharm Sci.* 2017;102:35–45.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.01.038>
19. Eon-Duval A, Broly H, Gleixner R. Quality attributes of recombinant therapeutic proteins: an assessment of impact on safety and efficacy as part of a quality by design development approach. *Biotechnol Prog.* 2012;28(3):608–22.
<https://doi.org/10.1002/btpr.1548>

20. Ishii-Watabe A, Kuwabara T. Biosimilarity assessment of biosimilar therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2019;34(1):64–70.
<https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2018.11.004>
21. Prior S, Metcalfe C, Hufton SE, Wadhwa M, Schneider CK, Burns C. Maintaining standards for biosimilar monoclonal antibodies. *Nat Biotechnol.* 2021;39(3):276–280.
<https://doi.org/10.1038/s41587-021-00848-0>
22. Vezér B, Buzás Z, Sebeszta M, Zrubka Z. Authorized manufacturing changes for therapeutic monoclonal antibodies (mAbs) in European Public Assessment Report (EPAR) documents. *Curr Med Res Opin.* 2016;32(5):829–34.
<https://doi.org/10.1185/03007995.2016.1145579>
23. Acha V, Mestre-Ferrandiz J. Translating European regulatory approval into healthcare uptake for biosimilars: the second translational gap. *Technol Anal Strateg Manag.* 2017;29(3):263–75.
<https://doi.org/10.1080/09537325.2017.1285396>
24. Alsamil AM, Giezen TJ, Egberts TC, Doevendans E, Leufkens HG, Gardarsdottir H. Nature and timing of post-approval manufacturing changes of tumour necrosis factor α inhibitor products: a 20-year follow-up study of originators and biosimilars. *Eur J Pharm Sci.* 2022;175:106227.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106227>
25. Prior S, Hufton SE, Fox B, Dougall T, Rigsby P, Bristow A. International standards for monoclonal antibodies to support pre- and post-marketing product consistency: evaluation of a candidate international standard for the bioactivities of rituximab. *MAbs.* 2018;10(1):129–42.
<https://doi.org/10.1080/19420862.2017.1386824>
26. Thorpe R, Wadhwa M. Intended use of reference products & WHO international standards/reference reagents in the development of similar biological products (biosimilars). *Biologicals.* 2011;39(5):262–5.
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2011.06.005>
27. Udpa N, Million RP. Monoclonal antibody biosimilars. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(1):13–4.
<https://doi.org/10.1038/nrd.2015.12>
28. Metcalfe C, Dougall T, Bird C, Rigsby P, Behr-Gross M-E, Wadhwa M. The first World Health Organization International Standard for infliximab products: a step towards maintaining harmonized biological activity. *MAbs.* 2019;11(1):13–25.
<https://doi.org/10.1080/19420862.2018.1532766>
29. Tebbey PW, Varga A, Naill M, Clewell J, Venema J. Consistency of quality attributes for the glycosylated monoclonal antibody Humira® (adalimumab). *MAbs.* 2015;7(5):805–11.
<https://doi.org/10.1080/19420862.2015.1073429>
30. Kang HN, Thorpe R, Knezevic I. The regulatory landscape of biosimilars: WHO efforts and progress made from 2009 to 2019. *Biologicals.* 2020;65:1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2020.02.005>
31. Lamanna WC, Holzmann J, Cohen HP, Guo X, Schweigler M, Stangler T, et al. Maintaining consistent quality and clinical performance of biopharmaceuticals. *Expert Opin Biol Ther.* 2018;18(4):369–79.
<https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1421169>
32. Wadhwa M, Bird Ch, Dilger P, Rigsby P, Jia H, Behr-Gross ME. Establishment of the first WHO International Standard for etanercept, a TNF receptor II Fc fusion protein: Report of an international collaborative study. *J Immunol Methods.* 2017;447:14–22.
<https://doi.org/10.1016/j.jim.2017.03.007>
33. Wadhwa M, Bird C, Atkinson E, Cludts I, Rigsby P. The first WHO international standard for adalimumab: dual role in bioactivity and therapeutic drug monitoring. *Front Immunol.* 2021;12:636420.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636420>
34. Jia H, Harikumar P, Atkinson E, Rigsby P, Wadhwa M. The first WHO international standard for harmonizing the biological activity of bevacizumab. *Biomolecules.* 2021;11(11):1610.
<https://doi.org/10.3390/biom11111610>
35. Goffe B, Cather JC. Etanercept: an overview. *J Am Acad Dermatol.* 2003;49(2 Suppl):105–11.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2003.05.054>
36. Tracey D, Klareskog L, Sasso EN, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacol Ther.* 2008;117(2):244–79.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.10.001>
37. Glennie MJ, French RR, Cragg MS, Taylor RP. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol.* 2007;44(16):3823–37.
<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.06.151>
38. Smith MR. Rituximab (monoclonal anti-CD20 antibody): mechanisms of action and resistance. *Oncogene.* 2003;22(47):7359–68.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206939>
39. Salinas-Jazmín N, Medina-Rivero E, Velasco-Velázquez MA. Bioassays for the evaluation of target neutralization and complement-dependent cytotoxicity (CDC) of therapeutic antibodies. *Methods Mol Biol.* 2022;2313:281–94.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1450-1_17
40. Marušič M, Klemenčič A. Adalimumab – general considerations. *J Pharmacol Clin Toxicol.* 2018;6(2):1104–11.
41. Roda G, Jharap B, Neeraj N, Colombel JF. Loss of response to anti-TNFs: definition, epidemiolo-

- gy, and management. *Clin Transl Gastroenterol*. 2016;7(1):e135.
<https://doi.org/10.1038/ctg.2015.63>
42. Meager A, Leung H, Woolley J. Assays for tumour necrosis factor and related cytokines. *J Immunol Methods*. 1989;116(1):1–17.
[https://doi.org/10.1016/0022-1759\(89\)90306-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(89)90306-2)
43. Khabar KS, Siddiqui S, Armstrong JA. WEHI-13VAR: a stable and sensitive variant of WEHI 164 clone 13 fibrosarcoma for tumor necrosis factor bioassay. *Immunol Lett*. 1995;46(1–2):107–10.
[https://doi.org/10.1016/0165-2478\(95\)00026-2](https://doi.org/10.1016/0165-2478(95)00026-2)
44. Minafra L, Di Cara G, Albanese NN, Cancemi P. Proteomic differentiation pattern in the U937 cell line. *Leuk Res*. 2011;35(2):226–36.
<https://doi.org/10.1016/j.leukres.2010.07.040>
45. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2004;3(5):391–400.
<https://doi.org/10.1038/nrd1381>
46. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: Beyond discovery and development. *Cell*. 2019;176(6):1248–64.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.021>
47. Wang Y, Fei D, Vanderlaan M, Song A. Biological activity of bevacizumab, a humanized anti-VEGF antibody *in vitro*. *Angiogenesis*. 2004;7(4):335–45.
<https://doi.org/10.1007/s10456-004-8272-2>
48. Ebbers HC, van Meer PJ, Moors EH, Mantel-Teeuwisse AK, Leufkens HG, Schellekens H. Measures of biosimilarity in monoclonal antibodies in oncology: the case of bevacizumab. *Drug Discov Today*. 2013;18(17–18):872–9.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.05.004>
49. Jefferis R. Recombinant antibody therapeutics: the impact of glycosylation on mechanisms of action. *Trends Pharmacol Sci*. 2009;30(7):356–62.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.04.007>
50. Beck A, Wagner-Rousset E, Ayoub D, Van Dorsselaer A, Sanglier-Cianféroni S. Characterization of therapeutic antibodies and related products. *Anal Chem*. 2013;85(2):715–36.
<https://doi.org/10.1021/ac3032355>
51. Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J. Trastuzumab (herceptin), a humanized anti-Her2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated Her2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer Res*. 2001;61(12):4744–9.
 PMID: 11406546
52. Collins DM, O'Donovan N, McGowan PM, O'Sullivan F, Duffy MJ, Crown J. Trastuzumab induces antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) in HER-2-non-amplified breast cancer cell lines. *Ann Oncol*. 2012;23(7):1788–95.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdr484>
53. Menard S, Pupa SM, Campiglio M, Tagliabue E. Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer. *Oncogene*. 2003;22(42):6570–8.
<https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206779>
54. Vincenzi B, Schiavon G, Silletta M, Santini D, Tonini G. The biological properties of cetuximab. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008;68(2):93–106.
<https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2008.07.006>
55. Kimura H, Sakai K, Arao T, Shimoyama T, Tamura T, Nishio K. Antibody-dependent cellular cytotoxicity of cetuximab against tumor cells with wild-type or mutant epidermal growth factor receptor. *Cancer Sci*. 2007;98(8):1275–80.
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00510.x>
56. Beck A, Wagner-Rousset E, Ayoub D, Van Dorsselaer A, Sanglier-Cianféroni S. Characterization of therapeutic antibodies and related products. *Anal Chem*. 2013;85(2):715–36.
<https://doi.org/10.1021/ac3032355>
57. Yazdi MH, Faramarzi MA, Nikfar S, Abdollahi M. A comprehensive review of clinical trials on EGFR inhibitors such as cetuximab and panitumumab as monotherapy and in combination for treatment of metastatic colorectal cancer. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2015;7(4):134–44.
 PMID: 26605007

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Л.А. Гайдерова** – концепция и дизайн исследования, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; **Н.А. Алпатова** – идея исследования, написание рукописи, формулировка выводов исследования; **С.Л. Лысикова** – обобщение материалов исследования, интерпретация результатов; **М.Л. Байкова** – сбор и систематизация данных литературы; **А.М. Гуськов** – сбор и систематизация данных литературы, оформление таблиц и рисунков; **Д.А. Зубков** – сбор и оформление данных литературы.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **L.A. Gayderova** conceptualised and designed the study, and approved the final version of the manuscript for publication. **N.A. Alpatova** devised the study idea, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. **S.L. Lysikova** summarised the materials and interpreted the study results. **M.L. Baykova** collected and collated literature data. **A.M. Guskov** collected and collated literature data, and designed tables and figures. **D.A. Zubkov** collected literature data and formatted the reference list.

Об авторах / Authors

Гайдерова Лидия Александровна, канд. мед. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-5934>

gaiderova@expmed.ru

Алпатова Наталья Александровна, д-р биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

alpatova@expmed.ru

Лысикова Светлана Леонидовна, канд. мед. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7864-8972>

lysikova@expmed.ru

Байкова Марина Леонидовна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9889-4038>

baikova@expmed.ru

Гуськов Александр Михайлович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-5316>

guskov@expmed.ru

Зубков Дмитрий Анатольевич

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6970-1732>

zubkov@expmed.ru

Поступила 21.08.2023

После доработки 26.10.2023

Принята к публикации 24.11.2023

Lidia A. Gayderova, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6176-5934>

gaiderova@expmed.ru

Natalia A. Alpatova, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6807-508X>

alpatova@expmed.ru

Svetlana L. Lysikova, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7864-8972>

lysikova@expmed.ru

Marina L. Baykova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9889-4038>

baikova@expmed.ru

Alexander M. Guskov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4523-5316>

guskov@expmed.ru

Dmitriy A. Zubkov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6970-1732>

zubkov@expmed.ru

Received 21 August 2023

Revised 26 October 2023

Accepted 24 November 2023