

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک (واکسن - بیوتکنولوژی دارویی)

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

فهرست

۷	مقدمه
۷	هدف و محدوده کاربرد
۸	تعاریف
۱۰	کلیات
۱۰	مطالعات غیر بالینی واکسن
۱۱	۱. مطالعه ایمونوژنیسیته
۱۲	۲. مطالعه غیر بالینی سمیت
۱۲	۱.۲. بررسی سمیت پایه
۱۲	۲.۲. حیوان مورد مطالعه
۱۳	۳.۲. دوز مورد استفاده در مطالعه سمیت
۱۳	۴.۲. راه تجویز
۱۳	۵.۲. پارامترهای ارزیابی
۱۴	۶.۲. تحمل موضعی
۱۴	۳. بررسی سمیت اضافی
۱۴	۱.۳. تحقیقات ایمونولوژیکی ویژه
۱۴	۲.۳. مطالعه سمیت تولید مثل
۱۵	۱.۲.۳. پارامترهایی که در سمیت تولید مثل بررسی می شود
۱۵	۳.۳. مطالعات ژنوتوکسیسیته و کارسینوژنیسیته
۱۵	۴.۳. سلامت فارماکولوژی
۱۶	۵.۳. مطالعه فارماکوکینتیک
۱۶	۴. ملاحظات خاص

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۱۶.....۱.۴. ارزیابی ادجوانت ها

۱۶.....۲.۴. ارزیابی افزودنی ها

۱۶.....۳.۴. فرمولاسیون واکسن و اقلام بسته بندی

۱۷.....۴.۴. راه تجویز جایگزین

۱۷.....۵. واکسن های زنده ضعیف شده

۱۸.....۶. واکسن های ترکیبی

۱۸..... مطالعه ی غیر بالینی در فرآورده های بیوتکنولوژی دارویی

۱۹.....۱. فارماکودینامیک

۱۹.....۱.۱. فعالیت اولیه و ثانویه فارماکودینامیک /زیستی

۱۹.....۲.۱. سلامت فارماکولوژی

۲۰.....۲. فارماکوکینتیک /کینتیک سمیت (PK/TK)

۲۰.....۱.۲. تعیین مقدار (Assay)

۲۰.....۲.۲. توزیع (Distribution)

۲۱.....۳.۲. متابولیسم (Metabolism)

۲۱.....۳. مطالعات سمیت

۲۱.....۱.۳. کلیات

۲۱.....۱.۱.۳. تعداد و جنس حیوانات مورد مطالعه

۲۱.....۲.۱.۳. تجویز/انتخاب دوز و کاربرد اصول PK/PD

۲۲.....۳.۱.۳. طول مدت مطالعه

۲۳.....۴.۱.۳. ارزیابی ایمنی زایی

۲۳.....۲.۳. مطالعات سمیت تک دوز

۲۳.....۳.۳. مطالعات سمیت دوز مکرر

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۲۳Recovery period .۱.۳.۳
۲۴۴.۳. مطالعات سمیت ژنی (ژنوتوکسیسیته)
۲۴۵.۳. مطالعه ی کارسینوژنیسیته
۲۴۱.۵.۳. کلیات
۲۵۲.۵.۳. استفاده از پروتئین های هومولوگ
۲۵۶.۳. مطالعه اثرات تولید مثل و سمیت تولید مثل
۲۵۱.۶.۳. کلیات
۲۵۱.۱.۶.۳. فرآورده هایی با احتمال بروز عوارض قابل پیش بینی بر روی بارداری و باروری
۲۶۲.۱.۶.۳. فرآورده هایی که احتمال بروز عوارض باروری و بارداری در آنها مشخص نیست.
۲۶۳.۱.۶.۳. فرآورده هایی که بروز عوارض جانبی در بارداری و باروری در مورد آنها انتظار نمی رود.
۲۶۲.۶.۳. باروری
۲۷۳.۶.۳. انتشار دارو در مایع جنینی و اثرات قبل و بعد زایمان
۲۷۱.۳.۶.۳. طراحی مطالعه
۲۷۲.۳.۶.۳. مطالعه ePPND
۲۸۴.۶.۳. زمان بندی مطالعه
۲۸۷.۳. تحمل موضعی
۲۸۸.۳. سایر مطالعات سمیت
۲۸۱.۸.۳. تشکیل آنتی بادی
۲۹۱.۱.۸.۳. تست آنافیلاکسی
۲۹۲.۸.۳. مطالعات ایمونوتوکسیسیته
۳۰۳.۸.۳. مطالعات واکنش های بافتی متقاطع (Tissue cross reactivity studies)
۳۰۴.۸.۳. ناخالصی ها

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیوسیمیلار ۳۱

منابع ۳۴

جدول توزیع نسخ

تعداد سند	محل نگهداری	
۱ نسخه	ریاست اداره بیولوژیک	نسخه اصلی
۱ نسخه	واحد سیستم مدیریت کیفیت	نسخه کپی

تعداد کل صفحات این مستند ۳۴ صفحه می باشد.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

مقدمه :

تحقیقات اخیر در زمینه بیوتکنولوژی و ایمونولوژی پایه منجر به تولید واکسن ها و فرآورده های بیوتکنولوژی دارویی جدید شده است که پیچیدگی و جدید بودن این محصولات نگرانی های علمی و چالش های رگولاتوری را ایجاد می نماید، چرا که اغلب معیار های سنجش سلامت و پوتنسی و معیار های کیفی ویژه محصول جدید تعریف نشده اند.

مطالعات غیر بالینی نقش مهمی در ارزیابی قبل از ثبت این فرآورده ها دارد. آزمایشات غیر بالینی پیش نیاز ورود به مطالعه بالینی است و شامل کلیه مراحل آزمایش ، مشخصه سازی ، اثبات ادعا ، مطالعه ایمونوژنیسیته و سلامت در حیوان قبل از شروع مطالعه در انسان است و به بیانی دیگر مطالعه غیر بالینی به کلیه آزمایشات *In vitro* و *In vivo* که قبل و در حین مطالعه بالینی یک فرآورده انجام می شود اطلاق می گردد.

نیاز و محدوده آزمون های غیر بالینی به ماهیت فرآورده مورد بررسی بستگی دارد. بطور مثال فرآورده ای که هیچ سابقه مطالعات حیوانی یا انسانی ندارد مطالعات غیر بالینی وسیع تری نسبت به آنهایی که قبلاً ثبت شده و در انسان مصرف شده اند خواهد داشت. در برخی موارد انجام مطالعه غیر بالینی قبل از شروع مطالعه فاز یک بالینی لازم نیست، بعنوان مثال در موارد انتقال تکنولوژی در صورتی که اطلاعات فرآورده اولیه در دست باشد داده های مطالعه غیر بالینی *Bridging* (مانند مطالعات فیزیکی شیمیایی ، مشخصه سازی و مطالعات *In vivo* مختصر) به عنوان پایه ای برای مطالعات آتی قابل پذیرش خواهد بود.

هدف و محدوده کاربرد :

هدف از تدوین این سند ارائه راهنمایی مشترک برای تهیه پروتکل و انجام مطالعه غیر بالینی حیوانی توسط سازندگان و نیز ارزیابی گزارشات مطالعات غیر بالینی به عنوان بخشی از فرایند ثبت در اداره کل دارو سازمان غذا و دارو است. کاربرد این سند در بررسی ثبت و تغییرات پس از ثبت واکسن ها و فرآورده های بیوتکنولوژی دارویی در اداره کل دارو می باشد. این راهنما باید همراه با (راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در امور علمی) و (راهنمای اخلاقی تعیین شدت مداخلات بر روی حیوانات آزمایشگاهی) ابلاغی سال ۱۳۹۷ و سایر راهنماهای مربوطه مورد استفاده قرار گیرد.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

تعاریف:

واکسیناسیون یادآور (Booster Vaccination):

جهت بهبود پاسخ ایمنی و ایجاد حفاظت دراز مدت، بعد از واکسیناسیون اولیه در یک دوره زمانی معین مجدداً واکسیناسیون انجام می گیرد.

مشخصه سازی (Characterization):

در طراحی و تفسیر مطالعات غیر بالینی بدلیل ماهیت بیولوژیک مواد آغازین، روش تولید و روش های آزمون باید مشخصه سازی شوند.

ادجوانت ها (Adjuvants):

ادجوانت ها ممکن است در فرمولاسیون واکسن بکار رفته و یا همراه با آن تجویز شوند تا پاسخ ایمنی به یک آنتی ژن خاص را افزایش دهند. ادجوانت مورد استفاده در صورت وجود در فارماکوپه بایستی با آن مطابقت داشته و سمیت غیر قابل قبول نداشته باشد.

واکسن ترکیبی (Combination Vaccine):

واکسنی متشکل از دو یا چند آنتی ژن، که در زمان تولید و یا قبل از مصرف با هم مخلوط شده اند. این واکسن ممکن است در برابر چند بیماری و یا در برابر یک بیماری ناشی از سویه های مختلف و سروتایپ های ارگانسیم های مشابه حفاظت ایجاد کند.

اصول بهینه ی مطالعه ی بالینی (Good Clinical Practice) (GCP):

استاندارد اجرای مطالعات بالینی که شامل طراحی، اجراء، نظارت، خاتمه، بازرسی، تجزیه و تحلیل، گزارش و مستند سازی و آرشیو اطلاعات می باشد و تضمین می کند که مطالعات از نظر علمی و اخلاقی صحیح بوده و ویژگی های بالینی (تشخیص، درمان و یا پیشگیری) در محصول دارویی تحت بررسی قرار گرفته و مستند می شوند.

اصول بهینه ی آزمایشگاهی (Good Laboratory Practice) (GLP):

سیستم کیفیت مربوط به شرایطی که تحت آن مطالعات غیر بالینی و ایمنی محیطی برنامه ریزی، اجراء، پایش، ثبت، آرشیو و گزارش می شود. اصول GLP به عنوان مجموعه ای از ضوابط برای اطمینان از کیفیت، اعتبار، یکنواختی مطالعه، گزارش نتایج و ارزیابی داده ها می باشد.

اصول بهینه ی تولید (Good Manufacturing Practice) (GMP):

قسمتی از تضمین کیفیت می باشد که تضمین می کند محصولات به طور یکنواخت تولید و با توجه به استاندارد های کیفیت کنترل شده اند.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

ارزیابی غیر بالینی واکسن (Nonclinical Evaluation of Vaccine):

همه ی تستهای *In vivo* و *In vitro* که قبل و در طول توسعه بالینی واکسن انجام می گیرد. سمیت بالقوه واکسن نه فقط قبل از شروع آزمایشات انسانی بلکه در طول توسعه واکسن نیز می بایست مورد بررسی قرار گیرند. پوتنسی (Potency):

روشی است که به وسیله ی آن فعالیت بیولوژیک محصول با استفاده از یک روش تعیین مقدار مناسب، بر اساس ویژگی ها و خواص بیولوژیک مربوط به محصول اندازه گیری می شود.

ارزیابی پیش بالینی واکسن (Preclinical Evaluation of Vaccine):

همه تست های *In vitro*, *In vivo* انجام گرفته قبل از انجام اولین مطالعه بر روی انسان می باشد، که پیش نیاز شروع مطالعات بالینی است و شامل مشخصه سازی تولید، اثبات ادعا، مطالعات ایمونوژنیسیته و مطالعه ایمنی بر روی حیوانات مورد مطالعه می باشد.

مطالعه سمیت پیش بالینی (Preclinical Toxicity Study):

مطالعه طراحی شده با هدف اولیه نشان دادن ایمنی و تحمل واکسن می باشد. طراحی مطالعه سمیت پیش بالینی باید با معیار های ذکر شده در بخش طراحی مطالعه مورد نظر در کارآزمایی بالینی مطابقت داشته باشد. مطالعات پیش بالینی سمیت باید در حدی باشد که اثرات سمی احتمالی واکسن را شناسائی و مشخص کند تا محقق به این نتیجه برسد که واکسن برای ورود به تحقیقات بالینی بحد کافی سالم است.

مدل حیوانی مناسب (Relevant Animal Model):

مدلی می باشد که پاسخ ایمنی مشابه با پاسخ ایمنی که از انسان بعد از واکسیناسیون انتظار می رود را ایجاد می کند. در حالت ایده آل گونه انتخاب شده باید به ارگانیزم های بیماری زا و یا سموم در معرض حساس باشند.

روش تجویز (Route of Administration):

روشی است که به وسیله آن واکسن به میزبان داده می شود. راه های احتمالی تجویز فرآورده شامل: وریدی، عضلانی، زیر جلدی، داخل جلدی، دهانی، داخل بینی، واژینال، رکتال و... می باشد.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

کلیات:

با توجه به ماهیت فرآورده های بیولوژیک انجام مطالعه غیر بالینی برای ثبت و اخذ مجوز ورود به بازار کلیه واکسن ها و فرآورده های بیوتکنولوژی دارویی بجز مواردی که در این سند مستثنی شده اند الزامی است. گزارش مطالعه باید در الگوی CTD به هنگام ثبت فرآورده ارائه شود. انجام مطالعه می بایست بر اساس پروتکل و مطابق موارد درخواستی در این سند صورت پذیرد و در صورت عدم انجام هر بخش توجیه کافی ارائه شود. مطالعه باید در مرکز معتبر صورت گرفته و گزارش مطالعه همراه با نتایج عددی و جداول و محاسبات آماری مرتبط ارائه شود لذا بدون ارائه و تایید نتایج مطالعه غیر بالینی شروع مطالعه روی نمونه انسانی مجاز نمی باشد.

اهداف مطالعات غیر بالینی تعریف اثرات فارماکولوژیکی و سم شناسی نه فقط در آغاز مطالعات انسانی، بلکه در کل دوره مطالعه بالینی است. گاهی انجام ارزیابی غیر بالینی در زمان انجام یک تغییر در فرایند تولید و یا تغییر فرمولاسیون فرآورده و یا برای بررسی سلامت فرآورده و بدلیل نگرانی های مطرح شده در حین انجام فاز یک و یا دو مطالعه بالینی و یا نگرانی هایی که در ارتباط با فرآورده در مقالات مطرح شده است، لازم می باشد.

در تمام موارد هنگامی که آزمون سلامت در حیوان انجام می شود، باید دلیل کافی برای انجام آن وجود داشته باشد و مطالعه باید منطبق با ضوابط ملی و بین المللی مربوط به حفاظت حیوانات، الزامات بایوسیفیتی (biosafety) و GLP بوده باشد. اگر در برخی شرایط انطباق کامل با اصول GLP امکان پذیر نباشد باید دلایل عدم انطباق مستند گردد. باید توجه داشت که عدم بروز سمیت در مطالعات حیوانی لزوماً به معنی سلامت در انسان نیست.

مطالعات غیر بالینی واکسن :

در طراحی و تفسیر مطالعات غیر بالینی بدلیل ماهیت بیولوژیک مواد آغازین، روش تولید و روش های آزمون باید مشخصه سازی شوند. علاوه بر آن بدلیل اینکه ارتباط بین خواص فیزیکی شیمیایی و ایمونوژنیسیته و اثر بخشی فرآورده همیشه کاملاً مشخص نشده است، تعیین خواص بیولوژیک از طریق آزمون Biological assay همیشه باید کامل کننده خواص فیزیکی شیمیایی باشد. تعیین روش های مناسب آزمایشگاهی برای تعیین مشخصات واکسن با فرمولاسیون و ترکیبات خاص به همراه سلامت و پوتنسی آن پیش نیاز مصرف بالینی هر واکسن جدید علیه باکتری، ویروس یا انگل است. اثبات یکنواختی تولید و اثبات اینکه محصول با سری ساخت های واکسن که در مطالعات بالینی، سالم و ایمونوژن و اثر بخش بوده اند تفاوتی ندارد ضروری است. به این منظور تولید کننده باید به هر صورت ممکن سری ساخت های مورد

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

استفاده در مطالعات بالینی را مشخصه سازی کند و در صورت لزوم برخی از نمونه این سری ساخت ها را به عنوان رفرانس نگهداری نماید.

سری ساخت های مورد استفاده در مطالعات غیر بالینی باید کاملا نماینده فرمولاسیون مورد استفاده در مطالعات بالینی باشند و بطور ایده آل مطالعه غیر بالینی باید با همان سری ساخت مورد استفاده در مطالعه بالینی صورت پذیرد. اگر این امر ممکن نباشد لازم است سری ساخت های مورد استفاده قابل مقایسه با واکسن مورد استفاده در مطالعه بالینی از نظر آزمون های فیزیکی شیمیایی ، پایداری و فرمولاسیون باشند.

هر گونه تغییر در مراحل توسعه واکسن و اثر آن روی سلامت ، کیفیت و اثر بخشی فرآورده باید با دقت مد نظر قرار گیرد و همچنین لزوم بررسی های غیر بالینی و بالینی بیشتر، مورد توجه قرار گیرد.

تست پوتنسی فعالیت بیولوژیک واکسن را اندازه گیری میکند ولی لزوما منعکس کننده مکانیسم پیشگیری در انسان نیست. معمولا نتایج تست پوتنسی برای ارزیابی یکنواختی تولید بکار می رود. بدون اینکه اجزاء آنتی ژنیک دقیقا شناخته شده باشند. در گذشته مطالعات چالش در حیوانات ایمن شده با واکسن مورد نظر انجام می شد که بعدا به آزمون های پوتنسی کنونی تبدیل شدند. در جایی که مدل حیوانی مناسب وجود ندارد پوتنسی اغلب بر پایه اندازه گیری پاسخ ایمنی و معمولا به روش سرولوژیکی تعیین میگردد.

۱. مطالعه ایمونوژنیسیته

مطالعه فارماکودینامیک روی یک واکسن عموما برای ارزیابی ایمونوژنیسیته انجام می شود. همچنین می تواند شامل مطالعه فارماکولوژی ادجوانت نیز باشد. علاوه بر این داده های ایمونوژنیسیته بدست آمده در مدل حیوانی در شناخت مشخصه های ایمونولوژیکی محصول کمک می کند و در انتخاب دوز و راه مصرف و برنامه درمان مورد بررسی در مطالعه بالینی راهنمایی کننده است. مطالعات غیر بالینی ایمنی زائی باید پاسخ ایمنی مرتبط به طور مثال ایمنی همورال و یا ایمنی سلولی را در حیوان واکسینه بررسی کند. بسته به پاسخ ایمنی ایجاد شده این مطالعات ممکن است شامل ارزیابی نرخ تغییر آنتی بادی (Seroconversion rates) میانگین هندسی تیترا آنتی بادی یا ایمنی سلولی در حیوان واکسینه شود. مطالعات غیر بالینی حتی الامکان باید برای بررسی پاسخ ایمنی مرتبط یعنی پاسخ ایمنی عملکردی (functional) که اثر پیشگیری دارد طراحی شود. (مانند آنتی بادی های خنثی کننده ، فعالیت opsonophagocytic و امثال آن)

این مطالعات همچنین برای بررسی اثر متقابل آنتی ژن ها و یا ویروس های زنده طراحی می شوند. در یک واکسن که بیش از یک آنتی ژن دارد (مانند واکسن پرتوسیس که شامل ۳ الی ۵ پروتئین است) پاسخ به هر آنتی ژن باید بررسی شود. در صورت امکان ،مطالعات چالشی/ پیشگیری با عامل عفونی برای تأیید ارتباط مدل حیوانی باید انجام شود.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

یکی از نگرانی های اولیه در تفسیر داده های حاصل از این مطالعات این است که تا چه حد مدل حیوانی نشان دهنده بیماری و پاسخ ایمنی در انسان است. باید دانست که مدل های حیوانی در بسیاری از موارد قادر به پیش بینی ایمنوژنیسیته و اثر بخشی در نمونه انسانی نیستند.

۲. مطالعه غیر بالینی سمیت

۱.۲. بررسی سمیت پایه

این مطالعه باید در حدی باشد که اثرات احتمالی واکسن را شناسایی و مشخص کند تا محقق به این نتیجه برسد که واکسن برای ورود به تحقیقات بالینی به حد کافی سالم است .

پارامتر هایی که در طراحی مطالعات حیوانی سمیت باید مد نظر قرار گیرد به گونه و نژاد حیوان و دوز و برنامه درمان ، راه مصرف واکسن و مدت زمان بررسی نقاط پایانی (بعنوان مثال زمان نمونه گیری برای شیمی بالینی ، ارزیابی آنتی بادی و نکروپسی) بستگی دارد.

اثرات سمیت بالقوه محصول باید در ارتباط با ارگان هدف ، دوز ، راه (راه های) تماس با بدن، مدت و تواتر تماس و احتمال برگشت پذیری ارزیابی شود. سمیت فرمولاسیون واکسن باید در یک مطالعه مجزا و اختصاصی و یا در مطالعات سلامت که نقاط پایانی سمیت در آن مطالعه تعریف شده باشد بررسی شود . مطالعه باید تحمل موضعی را هم بررسی کند. داده های مربوط به حیوان که باید در مطالعه سمیت ثبت شود شامل منبع تهیه حیوان ، گونه حیوان مورد نظر، شرایط حیوانخانه و سلامت حیوان می باشد.

۲.۲. حیوان مورد مطالعه

در مطالعه غیر بالینی معمولا یک گونه حیوان مورد استفاده قرار می گیرد مگر اینکه مکانیسم ایمنی زائی مشخص نباشد، که در این صورت از دو الی سه گونه استفاده می شود.

گونه انتخاب شده باید به میکروارگانیزم بیماری زا یا سم بیماری زا حساس باشد و پاسخ ایمنی به آنتی ژن واکسن ایجاد کند. هنگامی که تفاوت بین گونه ای یا بین نژادی در اثرات فارماکودینامیک فرآورده مشاهده شود ،لازم است در مطالعه ایمنی بیش از یک مطالعه و بیش از یک مدل حیوانی مد نظر قرار گیرد .

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۳.۲. دوز مورد استفاده در مطالعه سمیت

دوز مورد استفاده بر اساس پاسخ ایمنی القایی در اثر حداکثر تماس حیوان با واکسن مورد نظر تعیین می گردد. معمولا ارزیابی پاسخ - دوز به عنوان بخشی از مطالعات پایه ارزیابی سمیت ضروری نیست و نباید دوز سمی را در اندازه گیری برآورد کرد ولی میتوان مطالعه مقدماتی دوز- پاسخ در رابطه بین دوز و پاسخ ایمنی برای تعیین میزان دوز لازم برای ایجاد حداکثر آنتی بادی در حیوان مدل را انجام داد.

در صورت امکان بالاترین دوزی (به معنی واقعی) که باید در مطالعات بالینی استفاده شود باید در مدل حیوانی ارزیابی شود. به هر حال دوز مورد استفاده بسته به حجم تزریق در یک بار تجویز محدود می شود. ضمن اینکه منشور حقوق حیوان نیز باید رعایت گردد (بر اساس راهنمای اخلاقی پژوهش بر حیوانات آزمایشگاهی). در چنین مواقعی حجم کلی را می توان در بیش از یک سایت تجویز نمود یا دوزی که از دوز مورد نظر در انسان بیشتر است و در حیوان پاسخ ایمنی القا میکند را استفاده نمودو ضریب دوز انسانی و حیوانی را باید محاسبه نمود. تعداد دوز تجویزی به حیوانات تحت آزمون باید برابر یا بیشتر از تعداد دوز مورد نظر در انسان باشد. برای شبیه سازی بهتر مصرف بالینی، دوز های واکسن باید در فواصل زمانی مشخص تجویز شود نه اینکه بر پایه دوز روزانه باشد. فواصل زمانی مورد استفاده در مطالعه سمیت ممکن است کوتاه تر از مطالعه بالینی انسانی باشد.

۴.۲. راه تجویز

راه تجویز فرآورده می بایست مشابه راه تجویز در مطالعه بالینی باشد. اگر اثر سمیت در مطالعات سلامت با استفاده از یک راه مشخص تجویز مانند داخل بینی مشاهده شد مطالعات سمیت بیشتری با استفاده از راه های تجویز مختلف مانند داخل وریدی باید انجام شود تا طیف سمیت محصول مشخص شود.

۵.۲. پارامترهای ارزیابی

در مطالعات سمیت باید استعداد فرآورده برای ایجاد واکنش های التهابی موضعی و اثرات احتمالی روی تخلیه گره های لنفاوی، سمیت سیستمیک و نیز اثر روی سیستم ایمنی مد نظر باشد. طیف وسیعی از اطلاعات باید از مطالعات سمیت بدست آید. پارامترهایی که مورد ارزیابی قرار می گیرند شامل:

- ۱) مشاهده روزانه بالینی
- ۲) مشاهده وزن هفتگی
- ۳) مشاهده مصرف غذای هفتگی
- ۴) اندازه گیری مکرر وزن بدن در هفته اول

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

- ۵) آنالیز هماتولوژی و فاکتور های شیمیایی سرم : ۱-۳ روز بعد از تجویز اولین دوز و آخرین دوز و پایان دوره درمان
- ۶) در برخی موارد لازم است پارامتر های انعقادی، نمونه ادرار و ایمونو گلوبولین های سرم نیز بررسی شوند. داده های کنترلی نه تنها در زمان درمان بلکه بعد از فاز بهبودی (مثلا ۲ هفته یا بیشتر پس از آخرین دوز) باید جمع آوری گردند تا مقاومت دارویی و تشدید و یا برگشت پذیری عوارض جانبی احتمالی بررسی شوند.
- ۷) نکروسکوپی کامل بافت، زخم های ایجاد شده، وزن ارگان
- ۸) مطالعه هیستوپاتولوژی زخم ها، به ارگان های ایمنی مثل غدد لنفاوی ، تیموس ، کبد، مغز استخوان و بافت های لنفوئیدی و ارگان هایی که تزریق انجام میشود می بایست توجه شود.

۶.۲. تحمل موضعی

تحمل در موضعی که در تماس با آنتی ژن واکسن بدلیل راه مصرف خواهد بود و همچنین در موضعی که ناخواسته در معرض قرار میگیرند (مانند تماس چشمی با آئروسول هنگام تجویز) باید اندازه گیری شود.

۳. بررسی سمیت اضافی

۱.۳. تحقیقات ایمونولوژیکی ویژه

در بعضی از موارد ممکن است آنتی ژن های واکسن مشابه با آنتی ژن های میزبان باشد و باعث بروز واکنش های اتوایمن ناشی از شباهت مولکولی گردد. بنابراین هر آنتی ژن واکسن که خصوصیاتش مشابه آنتی ژن های میزبان است باید با احتیاط بکار گرفته شود، حتی اگر مشخص شده باشد که تشابه مولکولی لزوماً زمینه ساز بیماری اتو ایمن نیست. در انتخاب حیوان مدل مناسب دقت زیادی لازم است تا مشکلات فوق را پوشش دهد.

۲.۳. مطالعه سمیت تولید مثل

این مطالعات معمولاً برای واکسن های مورد مصرف در دوران کودکی لازم نیستند. ولی اگر جمعیت هدف واکسن زنان حامله و یا در سن باروری باشند باید این مطالعه انجام شود مگر اینکه سازنده بر اساس اصول علمی و یافته های بالینی ثابت کند لزومی برای انجام آن نیست. مدل حیوانی انتخاب شده باید پاسخ ایمنی به واکسن ایجاد کند که معمولاً توسط آنتی بادی سرمی اندازه گیری می شود. راه تجویز باید مشابه راه تجویز بالینی باشد. حداکثر دوز انسانی باید به حیوان آزمایشگاهی تجویز شود. اگر امکان ندارد که دوز کامل انسانی را تجویز نمود مثلاً محدودیت حجم تجویز و یا اگر سمیت موضعی مشاهده شده

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

موجب ایجاد استرس در مادر شود ، دوزی که غلظت بیشتری نسبت به دوز انسانی (بر پایه میلی گرم در کیلوگرم) دارد و قادر است پاسخ ایمنی در حیوان ایجاد کند باید استفاده شود.

بدلیل دوره کوتاه باروری در بیشتر حیوانات آزمایشگاهی ، اغلب لازم است قبل از باروری واکسن دریافت کند تا اطمینان حاصل شود جنین و رویان حداکثر مواجهه با پاسخ ایمنی ناشی از واکسن در مادر را دارند . در مورد واکسن های پیشگیرانه تعداد دوز به زمان شروع و دوره ایجاد پاسخ ایمنی بستگی دارد. دوز یادآور ممکن است در برخی موارد حین بارداری برای حفظ سطح بالای آنتی بادی و برای مواجهه با اجزاء فرمولاسیون واکسن لازم باشد.

بهتر است یک دوره پیگیری پس از زایمان برای نوزادان از زمان تولد تا وزن گیری در طراحی مطالعه گنجانده شود.

۱.۲.۳. پارامتر هایی که در سمیت تولید مثل بررسی می شود.

- اثرات روی قدرت باروری
- احتمال بروز اثر ناخواسته روی نطفه، جنین و یا نوزاد
- اثرات روی شیر دهی
- ارزیابی میزان در معرض قرار گرفتن رویان یا جنین با آنتی بادی مادری
- بررسی آنتی بادی مادری با اندازه گیری آنتی بادی ایجاد شده از واکسن در بند ناف و یا خون جنین
- یک دوره پیگیری پس از زایمان برای نوزادان از زمان تولد تا وزن گیری در طراحی مطالعه گنجانده شود.

۳.۳. مطالعات ژنوتوکسیسیته و کارسینوژنیسیته

معمولا مطالعات ژنوتوکسیسیته برای محصول نهایی لازم نیست، ولی ممکن است برای برخی از اجزا واکسن مانند ادجوانت ها و افزودنی های جدید انجام گیرد. در صورت لزوم تست های In-vitro برای موتاسیون و تخریب کروموزومی قبل از تماس انسانی باید انجام شود. مطالعه ژنوتوکسیسیته به موازات مطالعه بالینی قابل انجام است. مطالعات کارسینوژنیسیته برای آنتی ژن واکسن مورد نیاز نیست ولی ممکن است برای برخی از اجزا واکسن مانند ادجوانت ها و افزودنی های جدید لازم شود.

۴.۳. سلامت فارماکولوژی

هدف از مطالعه سلامت فارماکولوژی ارزیابی اثر واکسن مورد نظر بر عملکرد های حیاتی می باشد. اگر داده های مطالعات غیر بالینی و یا مطالعات بالینی نشان دهند که واکسن ممکن است علاوه بر اثر روی سیستم ایمنی بر عملکرد فیزیولوژیکی نیز اثر داشته باشد سلامت فارماکولوژیک باید در ارزیابی سمیت مطالعه شود.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۵.۳. مطالعه فارماکوکینتیک

این مطالعه معمولاً انجام نمی گیرد، مگر در مواردی که فرمولاسیون، اجوانت و یا راه مصرف جدیدی برای محصول معرفی شده باشد.

۴.۴. ملاحظات خاص

۱.۴. ارزیابی ادجوانت ها

ادجوانت ها از نظر خواص فیزیکی و بیولوژیک متفاوت هستند و براساس نوع پاسخ ایمنی مورد نظر انتخاب می شوند. مواردی که در این خصوص باید مد نظر قرار گیرد:

- ۱) بررسی اثر ادجوانت در مطالعه ایمونوژنیسیته
- ۲) بررسی سمیت ادجوانت به تنهایی در یک مطالعه
- ۳) بررسی اینکه آیا ترکیب ادجوانت با آنتی ژن اثر تشدید کننده عوارض جانبی در حیوان مدل را دارد؟
- ۴) بررسی سازگاری ادجوانت با تمام اجزا آنتی ژن موجود در واکسن

۲.۴. ارزیابی افزودنی ها

- ۱) هنگامی که یک افزودنی جدید در فرمولاسیون واکسن استفاده شود و داده های سمیت آن موجود نباشد، مطالعه سمیت افزودنی باید به طور جداگانه انجام گیرد.
- ۲) اطلاعات سازگاری ماده افزودنی با تمام آنتی ژن های واکسن باید مستند گردد.

۳.۴. فرمولاسیون واکسن و اقلام بسته بندی

فرمولاسیون واکسن و اقلام بسته بندی ممکن است بر جذب و اثر بخشی و سلامت واکسن تاثیر داشته باشد. فرمولاسیون واکسن و اقلام بسته بندی در مطالعات حیوانی باید مشابه مطالعات انسانی باشد. ممکن است مدل حیوانی که بتوان روی آن اقلام مورد استفاده در مطالعه بالینی را تست کرد، وجود نداشته باشد. در این موارد برای یافتن مدل مناسب حیوانی، لازم است مطالعات پایلوت برای تعریف و بهینه سازی شرایط توزیع دارو در حیوان مدل قبل از شروع مطالعه غیر بالینی محصول صورت پذیرد.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۴.۴. راه تجویز جایگزین

زمانی که راه های دیگری غیر از تزریق مورد نظر است، مطالعات سلامت غیر بالینی با فرمولاسیون واکسن و یا ادجوانت به تنهایی در مدل مناسب حیوانی باید انجام شود تا سلامت ویژه مرتبط با راههای مصرف بررسی شود.

- مدل حیوانی: هنگامی که راه مصرف غیر تزریقی برای واکسن مد نظر است باید به فیزیولوژی و آناتومی سایت مصرف در حیوان مورد مطالعه توجه ویژه شود.
- دوز مصرف: برای راه های خاص مصرف، مطالعه تعیین دوز باید انجام گیرد.
- نقاط پایانی سمیت: شامل مواردی است که در بخش ۴ توضیح داده شد و موارد دیگری که بسته به راه مصرف و ارگان هدف دارد را نیز شامل خواهد شد. بطور مثال اگر در خصوص پاساژ احتمالی اجزا واکسن در مغز پس از تجویز از راه بینی نگرانی وجود دارد، آزمون های ایمونوهیستولوژی و روش های *In situ* و یا بررسی و معاینات های نورولوژیکی لازم است. برای واکسن هایی که از راه استنشاقی تجویز می شوند نقاط پایانی شامل تست عملکرد ریوی و داده های هیستوپاتولوژی ریه لازم است .
- بررسی ایمونوژنیسیته: علاوه بر اندازه گیری پاسخ های سرولوژیکی، لازم است پاسخ *T cell*، سلول های ترشح کننده آنتی بادی و سایتوکاین نیز بررسی شود. ضمن اینکه لازم است روش هایی بکار رود تا بروز پاسخ های موضعی و سیستمیک در محل های دور از تجویز آنتی ژن نیز بررسی شود.

۵. واکسن های زنده ضعیف شده

- (۱) از ملاحظات مهم در این مطالعه بررسی درجه تضعیف شدگی و پایداری فنوتیپ تضعیف شده می باشد.
- (۲) جهت بررسی پایداری فنوتیپ تضعیف شده، واکسن مورد نظر می بایست در شرایط تولید حداکثری پاساژ داده شود. همچنین واکسن مورد نظر در شرایطی خارج از محدوده تولید پاساژ داده شده و پایداری فنوتیپ تضعیف شده بررسی شود.
- (۳) برای تمام واکسن های زنده ضعیف شده احتمال مبادله اطلاعات ژنتیکی باسویه های غیر واکسینال باید مد نظر باشد و آنالیز های تحت بالینی در این خصوص طراحی شود تا داده های لازم بدست آید.
- (۴) اگر نوع وحشی ارگانیزم نوروئوپیک باشد . آزمون نوروویرولانسی^۱ باید حداقل یکبار در سطح بذر (Seed) واکسن انجام شود. آزمون نوروویرولانسی برای همه واکسن های زنده ضعیف شده الزامی نیست.

^۱ Neurovirulence

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۵) اگر واکسن زنده ضعیف شده از یک میکروارگانیسم تغییر ژنتیکی یافته بدست آید، ارزیابی مخاطرات زیست محیطی به عنوان بخشی از مطالعات پیش بالینی لازم است.

۶. واکسن های ترکیبی

- ۱) آنتی ژن های ترکیبی باید به روش های فیزیکی شیمیایی مناسب تست شوند تا تغییرات احتمالی خواص آنتی ژن در ترکیب و همچنین پایداری ترکیب آن بررسی شود.
- ۲) پاسخ ایمنی به تک تک آنتی ژن های ترکیب باید ارزیابی شود، این بررسی شامل کیفیت پاسخ دهی و هر گونه تداخل و ناسازگاری بین آنتی ژن های ترکیب می باشد.
- ۳) ترکیب جدید در مقایسه با آنتی ژن های منفرد در حیوان ارزیابی شود تا مشخص شود که پاسخ ایمنی افزایش یا کاهش می یابد.
- ۴) نیاز به ارزیابی سلامت واکسن ترکیب جدید در حیوان مدل باید مورد به مورد بررسی شود.

مطالعه ی غیر بالینی در فرآورده های بیوتکنولوژی دارویی:

هدف از انجام مطالعه این است که مشخص شود فرآورده های تولید شده اثرات فارماکودینامیک مورد نظر را اعمال می نمایند و احتمال ایجاد اثرات ناخواسته جانبی را ندارند. مطالعات کلاسیک که در مورد دارو های شیمیایی بکار می رود در مورد این فرآورده ها دلیل خواص بیولوژیک و ساختار پیچیده و منحصر به فرد کاربرد ندارد. ویژگی های مربوط به گونه و ایمونوژنیسیته اغلب مشکلاتی در ارزیابی حیوانی ایجاد می کند لذا ارزیابی خواص فارماکولوژی و سلامت در حیوانات برای فرآورده نو ترکیب می بایست انعطاف پذیر باشد. بطور مثال برخی پروتئین های انسانی در انسان فعال تر از هر حیوان آزمایشگاهی هستند که این امر باید در بررسی ایمونوژنیسیته مد نظر باشد. علاوه بر آن پروتئین های انسانی در حیوانات پاسخ های ایمنی ناخواسته ایجاد می کنند که اثرات بیولوژیک آن را تحت تاثیر قرار خواهد داد و حتی ممکن است ایجاد سمیتی کند که (دلیل ایجاد کمپلکس ایمنی) در نمونه انسانی رخ نخواهد داد. بنابراین محدوده مطالعه در مورد این قبیل فرآورده ها باید مورد به مورد بررسی و تعیین شود.

اهداف اولیه مطالعات حیوانی عبارتند از:

- تشخیص دوز ایمن اولیه و برنامه افزایش دوز بعدی در انسان؛
- تشخیص ارگان های هدف بالقوه برای سمیت و بررسی اینکه آیا سمیت برگشت پذیر است یا خیر؟

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

- تشخیص پارامترهای ایمنی برای استفاده در مانیتورینگ مطالعات بالینی

۱. فارماکودینامیک

۱.۱. فعالیت اولیه و ثانویه فارماکودینامیک/زیستی

فعالیت بیولوژیک با استفاده از ارزیابی های برون سلولی (In vitro) جهت تعیین اثراتی از محصول که می تواند به فعالیت بالینی مرتبط باشد، ارزیابی می گردد. استفاده از رده های سلولی و یا کشت های سلولی اولیه می تواند برای بررسی اثرات مستقیم بر روی فنوتیپ سلولی و تکثیر مفید باشد. بدلیل خاصیت وابسته به گونه بسیاری از داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نو ترکیب، انتخاب گونه های حیوانی متناسب با آزمایش مهم است. پستانداران غیر انسان (NHPS)^۲ تنها گونه های مرتبط از نظر فارماکولوژیکی یا سم شناسی هستند؛ و دیگر گونه ها بایستی برای فعالیت زیستی مربوط ارزیابی شوند. رده های سلولی آزمایشگاهی مشتق از سلول های پستانداران می توانند برای پیش بینی جنبه های خاص فعالیت درون سلولی (In vivo) و ارزیابی کمی حساسیت گونه های مختلف، از جمله انسان به داروهای بیولوژیک استفاده گردند.

۲.۱. سلامت فارماکولوژی

بر اساس هدف یا مکانیسم عمل محصول، بررسی پتانسیل ایجاد فارماکولوژی نامطلوب در مدل های حیوانی مناسب، مهم است. هدف از مطالعات سلامت فارماکولوژی آشکار کردن هرگونه اثر عملکردی روی سیستم های فیزیولوژیکی مهم می باشد (مانند سیستم قلبی عروقی، تنفسی، و سیستم عصبی مرکزی). این شاخص های عملکردی ممکن است در مطالعات جداگانه یا ترکیبی در طراحی مطالعات سمیت و یا مطالعات بالینی بررسی شود. بررسی ها ممکن است فقط بر روی حیوان کامل انجام نشود و شامل استفاده از بافت های جدا شده یا دیگر سیستم های آزمایش باشد.

²Non Human Primates

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۲. فارماکوکینتیک/کینتیک سمیت (PK/TK)^۳

ایجاد دستورالعملهای یکسان جهت مطالعات PK برای داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب مشکل است. تفاوتهای PK بین گونه‌های جانوری ممکن است اثر قابل توجهی بر روی پیش‌بینی مطالعات حیوانی یا ارزیابی ارتباط‌های دوز-پاسخ در مطالعات سمیت داشته باشد لذا بایستی توجیه علمی برای انتخاب گونه‌های جانوری مورد استفاده برای ارزیابی PK/TK ارائه گردد.

در صورت امکان، در مطالعات PK طرحهایی استفاده شود که نمایانگر موارد در نظر گرفته شده برای آزمایش سمیت یا استفاده بالینی می باشند و بایستی راه تجویز مرتبط با مطالعات بالینی پیش‌بینی شده را بکار گیرند. الگوهای جذب ممکن است توسط فرمولاسیون، غلظت ماده موثره، محل تجویز، و یا حجم تجویز تحت تاثیر قرار گیرد. در صورت وجود احتمال جذب سیستماتیک لازم است در طی مطالعات، سمیت پایش شود.

برخی اطلاعات در مورد جذب، دفع، و پاکسازی (Clearance) در مدل‌های حیوانی مرتبط بایستی قبل از مطالعات بالینی در دسترس باشد تا بتوان حاشیه ایمنی برای مواجهه با فرآورده را پیش بینی کرد. درک رفتار داروهای بیولوژیک در ماتریکس زیستی (مانند پلاسما، سرم، مایع مغزی-نخاعی) و تاثیر احتمالی پروتئین‌های باند شده برای اثر فارماکودینامیک مهم است.

۱.۲ تعیین مقدار (Assay)

اینکه از یک روش و یا از چند روش برای تعیین مقدار استفاده شود، می بایست مورد به مورد بررسی گردد و معمولاً یک روش معتبر شده کافی بنظر میرسد. بطور ایده‌آل، بایستی روش‌های تعیین مقدار برای مطالعات حیوانی و انسانی یکسان باشد. تاثیر احتمالی پروتئین‌های باند شده به پلاسما و یا آنتی‌بادی‌های پلاسما یا سرم روی تعیین مقدار باید تعیین شود.

۲.۲ توزیع (Distribution)

برخلاف داروهای شیمیایی کوچک که به آسانی توزیع می‌شوند، داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب بخاطر وزن مولکولی خود، به آسانی توزیع نمی‌شوند، بلکه بدن‌بال تجویز داخل وریدی در ابتدا وارد سیستم عروقی می‌شوند (در داخل

^۳ Pharmacokinetic

^۴ toxicokinetics

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

سیستم عروقی گیر می افتند) و با گذشت زمان بدلیل عوامل مختلفی مانند جریان بالک و انتقال فعال در فضای خارج سلولی پخش می شوند.

۳.۲. متابولیسم (Metabolism)

نتیجه مورد انتظار متابولیسم داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نو ترکیب، تجزیه به پپتیدهای کوچک و آمینواسیدهای جدا و منفرد است. بنابراین، مسیر متابولیسم بطور کلی مشخص است و مطالعات بیوترانسفورماسیون کلاسیک، بنحوی که برای داروهای شیمیایی انجام می شود، لازم نیست در مورد این داروها انجام شود.

۳. مطالعات سمیت

بنا به دلایل اخلاقی، بکاربردن سه مفهوم "جایگزین کردن، کاهش دادن، بهبودبخشیدن" جهت به حداقل رساندن استفاده از حیوانات در تحقیق مطلوب است و بایستی به استفاده مناسب از روش های جایگزین آزمایشگاهی برای ارزیابی ایمنی توجه شود.

۱.۳. کلیات

۱.۱.۳. تعداد و جنس حیوانات مورد مطالعه

تعداد حیوانات استفاده شده در هر دوز تاثیر مستقیم بر روی توانایی تشخیص سمیت دارد. بطور کلی، هر دو جنس بایستی استفاده شوند. حداقل سائز نمونه برای مطالعات مهم سمیت بر اساس اصول GLP^۵ در NHPS (غیر انسانها) سه حیوان در هر جنس در نظر گرفته می شود، اگر یک گروه ریکاوری در مطالعه وارد شود، باید حداقل شامل دو حیوان اضافه در هر جنس شود.

۲.۱.۳. تجویز/انتخاب دوز و کاربرد اصول PK/PD

راه تجویز و تعداد تکرار تجویز باید تا حد ممکن به آنچه که برای استفاده بالینی پیشنهاد شده، نزدیک باشد. بایستی به فرماکوکینتیک و فراهمی زیست محصول در گونه های مورد استفاده و همچنین حجمی که می تواند بدون خطر به حیوانات تحت آزمایش تجویز شود توجه نمود. بعنوان مثال، به منظور جبران میزان کلیرانس بیشتر یا حلالیت پایین تر ماده موثره، تعداد تجویز در حیوانات آزمایشگاهی می تواند در مقایسه با برنامه پیشنهادی برای مطالعات بالینی انسانی افزایش یابد. در این

^۵ Good laboratory practice

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

موارد، سطح در معرض قرار گرفتن حیوان مورد آزمایش بایستی متناسب با در معرض قرارگیری در مطالعه بالینی تعریف شود. همچنین بایستی به اثرات حجم تجویز، غلظت ماده موثره، فرمولاسیون، و محل تجویز توجه شود. اگر بدلیل فراهمی زیستی محدود، محدودیت‌هایی ناشی از روش تجویز وجود داشته باشد یا بخاطر اندازه گونه‌های حیوانی مورد استفاده روش تجویز تغییر یابد، استفاده از روش‌های تجویز به غیر از آن‌هایی که بصورت بالینی استفاده می‌شوند ممکن است قابل قبول باشد. در صورت امکان، سطوح دوز بایستی با توجه به داده‌های منحنی دوز-پاسخ شامل یک دوز سمی و دوزی که "هیچ سطحی از عوارض جانبی مشاهده نشده" (NOAEL)^۱ انتخاب شوند. این داده‌ها ممکن است برای ارزیابی حداکثر دوز آغازگر توصیه شده در کارآزمایی‌های بالینی مقدماتی استفاده شود. علاوه بر این برای انتخاب یک دوز آغازگر ایمن برای کارآزمایی‌های بالینی اولیه در انسان، تشخیص "حداقل سطح اثر زیستی پیش‌بینی شده" (MABEL)^۲ بایستی مورد توجه قرار گیرد. سمیت اغلب داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب به مکانیسم هدف آنها وابسته است بنابراین دوزهای به نسبت بالا می‌توانند موجب عوارض جانبی شدید شده شوند. برای برخی از دسته‌های محصول که اثر سمی کمی نشان می‌دهند یا اینکه هیچ اثر سمی نشان نمی‌دهند، ممکن است تعریف کردن یک دوز حداکثری دقیق ممکن نباشد. در این موارد، توجیه علمی درباره منطق انتخاب دوز بایستی ارائه گردد. برای توجیه کردن انتخاب یک دوز بالا، بایستی به اثرات فارماکولوژی/فیزیولوژی مورد انتظار و استفاده بالینی مورد نظر توجه شود. در مواردی که محصول برای سلول‌های گونه‌های انتخاب شده نسبت به سلول‌های انسانی تمایل کمتری داشته باشد یا قدرت اثر کمتری داشته باشد، دوزهای بالاتر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. دوز انسانی ایمن در هر دسته‌ای از داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب متفاوت می‌باشد. منطقی که بایستی برای انتخاب دوز ارائه گردد، ارتباط دوز-پاسخ را در نظر می‌گیرد. روش‌های PK-PD می‌توانند در انتخاب دوز از طریق شناسایی موارد زیر کمک کنند: الف) دوزی که حداکثر اثر فارماکولوژی مورد نظر را در گونه‌های حیوانی انتخاب شده فراهم می‌کند و ب) دوزی که ده برابر حداکثر در معرض قرارگرفتنی که در مطالعه بالینی بدست می‌آید را فراهم می‌کند. دوزهای بالاتر از این دو دوز بایستی برای گروه دوز بالا در مطالعات سمیت غیر بالینی انتخاب شوند، مگر اینکه توجیهی برای استفاده از دوز پایین وجود داشته باشد.

۳.۱.۳. طول مدت مطالعه

برای محصولات با استفاده طولانی مدت، مطالعات سمیت دوز مکرر به مدت شش ماه در جوندگان یا غیر جوندگان، معمولاً مناسب و کافی به نظر می‌رسد.

^۱ No observed adverse effect level

^۲ minimum anticipated biological effect level

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۴.۱.۳. ارزیابی ایمنی زایی

بسیاری از داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب که برای استفاده انسانی تهیه می شوند، در حیوانات ایمونوژنیک می باشند بنابراین نمونه های پلاسما حیوانات مورد مطالعات سمیت دوز مکرر بایستی در دمای مناسب نگهداری شده و برای حضور آنتی بادی های تولید شده بر علیه ملکول های دارویی، زمانیکه برای تفسیر مطالعه لازم است، آنالیز شوند.

۲.۳. مطالعات سمیت تک دوز

بطور کلی، مطالعات سمیت تک دوز بایستی فقط در حالتی انجام شود که احتمال سمیت قابل توجه ای وجود دارد و یا نیاز به اطلاعاتی برای انتخاب دوز به منظور انجام مطالعات دوز مکرر می باشد. مطالعات تک دوز ممکن است داده های مفیدی جهت توصیف ارتباط دوز با سمیت سیستمیک و یا موضعی ارائه دهد. این اطلاعات می تواند برای انتخاب دوزهای مطالعه سمیت مکرر استفاده شود.

۳.۳. مطالعات سمیت دوز مکرر

مسیر و رژیم تجویز (بعنوان مثال تجویز روزانه در مقابل تجویز متناوب) بایستی استفاده بالینی یا در معرض قرار گرفتن با فرآورده مورد نظر را منعکس کند. طول دوره مطالعات دوزهای مکرر بایستی براساس طول دوره مورد نظر در معرض قرارگیری بالینی و علائم بیماری باشد. برای اغلب داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب طول دوره تجویز حیوانی بطور کلی بین ۱-۳ ماه است. برای فرآورده های با استفاده کوتاه مدت (مثلا کمتر از ۷ روز) و برای بیماری های حاد تهدیدکننده زندگی، مطالعات دوزهای مکرر تا طول مدت ۲ هفته برای پشتیبانی از یافته های مطالعات بالینی و نیز اخذ مجوز ثبت کافی بنظر میرسد. برای موارد مزمن، بطور کلی مطالعات ۶ ماهه مناسب می باشد.

۱.۳.۳ Recovery period

بهبودی از اثرات فارماکولوژی و سمیت بایستی هنگامی که در مواجه بالینی قرار می گیرند، اثبات شود. اطلاعات بهبودی با در نظر گرفتن اینکه اثر خاص مشاهده شده به طور کلی برگشت پذیر و یا برگشت ناپذیر است بدست خواهد آمد و یا از طریق یک دوره ی non-dosing که در حداقل یک مطالعه و حداقل در یک سطح دوز انجام شده باشد. هدف از دوره ی non-dosing بررسی برگشت پذیری این اثرات بوده و هدف ارزیابی سمیت تاخیری نیست. اثبات کامل بهبودی ضروری نیست و لازم نیست دوره بهبود در بررسی ایمونوژنیسیته لحاظ شود.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۴.۳. مطالعات سمیت ژنی (ژنوتوکسیسیته)

محدوده و نوع مطالعات سمیت ژنی که بطور روتین برای داروهای شیمیایی استفاده می‌شود برای داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نو ترکیب کاربرد ندارند و بنابراین مورد نیاز نمی‌باشند. علاوه، تجویز مقادیر زیادی از پپتیدها و پروتئینها ممکن است نتایج غیر قابل تفسیری ایجاد کند. انتظار نمی‌رود که این مواد بطور مستقیم با DNA یا دیگر مواد کروموزومی واکنش دهند. با برخی از داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نو ترکیب نگرانی در مورد تجمع سلول‌های خود بخود جهش یافته که منجر به کارسینوژنیسیته [سرطانزایی] می‌شود، وجود دارد. مطالعات استاندارد سمیت ژنی برای شناسایی این شرایط طراحی نشده است. جهت پاسخ‌دادن به چنین نگرانی‌هایی ممکن است نیاز به مدل‌های برون تنی و درون تنی جایگزین باشد.

۵.۳. مطالعه ی کارسینوژنیسیته

۱.۵.۳. کلیات

منظور از کارسینوژنیسیته احتمال ایجاد تومور جدید می باشد. به هر حال فعالیت و تکثیر سلول های توموری نیز باید بررسی شود. لزوم بررسی اثرات کارسینوژنیک فرآورده های نو ترکیب با توجه به جمعیت بالینی و طول دوره درمان مشخص می گردد. در این صورت باید در طراحی مطالعه خطرات بالقوه با استفاده از اطلاعات منابع مختلف در نظر گرفته شود.

در برخی موارد اطلاعات موجود برای نشان دادن عوارض کارسینوژنیک کافی می باشد و نیازی به مطالعات غیر بالینی نیست.

مکانیسم عمل در برخی از فرآورده بیوتراپوتیک نو ترکیب احتمال کارسینوژنیسیته را بالا می برد (ایمونوساپرسیو ها و فاکتور های رشد). اگر همه اطلاعات موجود این نظریه را تأیید کند نیازی به بررسی روی جوندگان نمی باشد. در این موارد خطر بالقوه باید در برچسب فرآورده ذکر و مدیریت ریسک انجام شود.

در مواردیکه مرور اطلاعات مشخص کند که هیچ نوع عوارض کارسینوژنی وجود ندارد، نیازی به انجام تست های اضافی نمی باشد. به هر حال وقتی نتایج کارسینوژنیسیته بعد از مرور اطلاعات نامشخص بماند، مطالعات غیر بالینی باید انجام شود تا اطلاعات مربوط به مکانیسم را کامل تر کند.

همچنین اگر عارضه کارسینوژنیسیته بعد از انجام مطالعات نامشخص بماند، در این مورد نیز لازم است خطر بالقوه در برچسب فرآورده ذکر شده و مدیریت ریسک انجام شود.

در مواردیکه با انجام مطالعات غیر بالینی احتمال کارسینوژنیسیته کاهش یابد، لازم است در بروشور ذکر شود. موقع انتخاب مدل حیوانی برای ارزیابی رشد تومور در مورد داروهای نو ترکیب به این موضوع توجه شود که ممکن است دارو عارضه غیر

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

اختصاصی ثانویه روی تومور داشته باشد. بنابراین در طراحی مطالعه و انتخاب گروه کنترل باید دقت شود تا از تفسیر اشتباه نتایج اجتناب شود.

۲.۵.۳ استفاده از پروتئین های همولوگ^۱

پروتئین همولوگ بعنوان پروتئینی با منشا حیوانی تعریف می شود (مثلا از موش، رت، سگ، خرگوش یا پستانداران غیر انسان) که هدف مناسب را در گونه های مربوطه با همان قدرت مشابه نمونه انسانی در مطالعه بالینی، تشخیص میدهد. ارزیابی های بیولوژیک در (Bioassay) جوندگان (یا مطالعات سرطانزایی کوتاه مدت) با محصولات همولوگ بطور کلی ارزش محدودی برای ارزیابی پتانسیل سرطانزایی کاندیدای بالینی دارند. از آنجایی که فرآیند تولید، محدوده ناخالصی ها، فارماکوکینتیک، و مکانیسم های دارویی ممکن است بین فرم همولوگ و محصول مورد نظر برای استفاده بالینی متفاوت باشد، مطالعات با پروتئین های همولوگ در مجموع برای بررسی کمی ریسک مفید نیستند.

۶.۳ مطالعه اثرات تولید مثل و سمیت تولید مثل

۱.۶.۳ کلیات

انجام این مطالعه بستگی به نوع فرآورده، موارد مصرف و جمعیت هدف دارد. مطالعه و جدول دوز با توجه به ویژگی های اختصاصی فرآورده، ایمونوژنیسیته، فعالیت بیولوژیک و نیمه عمر طولانی حذف طراحی می شود.

۱.۱.۶.۳ فرآورده هایی با احتمال بروز عوارض قابل پیش بینی بر روی بارداری و باروری

وقتی اطلاعات موجود مانند مکانیسم عمل فرآورده، اطلاعات فنوتیپی حاصل از حیوانات اصلاح ژنتیکی شده و اثر دسته دارویی به طور مشخص بیانگر بروز عوارض ناخواسته روی بارداری و باروری باشد، این مخاطرات در درمان مد نظر خواهد بود و نیازی به انجام مطالعه غیربالینی نیست. ممکن است در مواردی اطلاعات عمومی وسیعی در مورد یک دسته دارویی خاص (به طور مثال اینترفرون ها) وجود داشته باشد و در صورتیکه حیوان مربوطه یک پریمات غیر انسانی باشد، در چنین مواردی مطالعات مکانیسمی که دلالت بر اثر مشابه ایجاد شده توسط مولکول جدید کند، کافی می باشد و نیازی به مطالعات معمول باروری و سمیت تولید مثل نمی باشد. در هر مورد ارائه شواهد علمی برای ارزیابی اثرات احتمالی فرآورده روی تولید مثل لازم است.

^۱ homologous proteins

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۲.۱.۶.۳. فرآورده هایی که احتمال بروز عوارض باروری و بارداری در آنها مشخص نیست. طراحی مطالعه اختصاصی و جدول دوز را می توان بر اساس ویژگی های حیوان ، ماهیت و مکانیسم عمل فرآورده ایمونوژنیسیته و روند PK و عبور از جفت تعدیل کرد.

انتخاب نوع حیوان:

در ارزیابی سمیت بر روی تولید مثل ، فرآورده باید از نظر فارماکولوژیکی با نوع حیوان مرتبط باشد. وقتی که فرآورده هم در جوندگان و هم خرگوش اثر فعال بالینی دارد، هر دو گونه باید برای مطالعه EFD^۹ استفاده شوند، مگر اینکه تراژوژنیسیته^{۱۰} یا مرگ جنین در یک گونه شناخته شده باشد . مطالعه در پستانداران غیر از انسان NHP تنها در صورتی باید انجام شود که این مورد تنها گونه مرتبط بوده و یا فرآورده تنها در NHP اثر فعال بالینی داشته باشد حتی در این موارد نیز می توان گونه جایگزین را با دلایل قابل قبول علمی جایگزین نمود.

ارزیابی جایگزین در صورت نبود حیوان مناسب:

زمانی که حیوان مناسب برای تست فرآورده مورد مطالعه نباشد، از موش ترانس ژنیک^{۱۱} با فرض این که اطلاعات و سابقه علمی کافی برای آن موجود باشد میتوان استفاده نمود.

۳.۱.۶.۳ فرآورده هایی که بروز عوارض جانبی در بارداری و باروری در مورد آنها انتظار نمی رود.

فرآورده هایی که به سمت اهداف خارجی از جمله ویروس و باکتری هدف گذاری شده اند. عموماً نیازی به انجام مطالعه سمیت باروری ندارند.

۲.۶.۳. باروری

برای فرآورده هایی که موش یا رت از نظر فارماکولوژیکی مناسب می باشند، ارزیابی عوارض باروری بر روی یکی از جوندگان باید انجام شود.

^۹ embryo-fetal development

^{۱۰} teratogenicity

^{۱۱} transgenic mice

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

با توجه به ماهیت فراورده و توان ایجاد واکنش های ایمنی ، انجام مطالعه روی NHPs عملی نیست ولی وقتی NHP تنها گونه مرتبط باشد اثر فرآورده بر روی باروری نر و ماده با ارزیابی اندام تناسلی (مثل وزن و ارزیابی هیستوپاتولوژیک) NHPs بالغ جنسی در یک مطالعه دوز های مکرر برای حداقل ۳ ماه انجام می شود.

اگر بر پایه فعالیت فارماکولوژیک دارو و یا سوابق علمی موجود نگرانی خاصی در این مورد وجود دارد بررسی های تخصصی مانند ارزیابی سیکل قاعدگی، شمارش اسپرم، بررسی سطوح هورمون های جنسی باید انجام شود.

استفاده از مدل ترانس ژنیک یا فرآورده هومولوگ برای بررسی اثر conception/implantation توصیه نمی شود. در صورت نبود اطلاعات غیربالینی کافی ، اطلاع رسانی و مدیریت مطالعه بالینی و اخذ رضایت و اطلاع رسانی در بروشور فرآورده باید انجام شود.

۳.۶.۳ انتشار دارو در مایع جنینی و اثرات قبل و بعد زایمان

۱.۳.۶.۳ طراحی مطالعه

تفاوت های احتمالی در عبور از جفت فرآورده های بیوتراپوتیک نو ترکیب در طراحی و تفسیر مطالعات سمیت باید در نظر گرفته شود. برای فرآورده هایی که تنها در NHP از نظر فارماکولوژیکی فعال هستند، مطالعات متعددی بر اساس استفاده بالینی و فارماکولوژی دارو میتوان طراحی کرد. اثرات بر روی EFD و PPND^{۱۲} بویژه در موارد عوارض ناخواسته روی EFD و یا سقط جنین را در یک مطالعه مجزا و یا در سایر مطالعات در صورت ارائه دلایل کافی و قابل قبول می توان بررسی کرد. در هر حال یک مطالعه جامع بر NHP شامل شروع تجویز از روز ۲۰ بارداری تا زمان تولد را ePPND^{۱۳} بجای مطالعات پراکنده EFD و PPND میتوان طراحی نمود.

۲.۳.۶.۳ مطالعه ePPND

برای مطالعه واحد ePPND (مورد فوق) نیازی به گروه سزارین نمی باشد ولی بررسی نتایج زایمان طبیعی ضروری می باشد. این مطالعه باید زنده ماندن جنین ، ناهنجاری های خارجی، اثرات روی استخوان بندی (مثلا با اشعه ایکس) و مورفولوژی اندام های درونی را به روش نکروسکوپی بررسی کند. اولتراسوند برای پیگیری ادامه بارداری مفید می باشد ولی برای ارزیابی ناهنجاریها اختصاصی نمی باشد. به علت عوارض جانبی روی فرزند ادامه مطالعه بعد زایمان توصیه نمی شود. سایر نقاط پایانی

^{۱۲} pre/postnatal development

^{۱۳} enhanced PPND

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

در فرزند را در صورت وجود ارتباط فارماکولوژیکی می توان بررسی نمود. فعالیت های فارماکولوژیکی را بر روی فرزند از جنبه های دیگر میتوان بررسی کرد. طول مدت فاز ارزیابی پس از زایمان بستگی به تعریف این نقاط پایانی خواهد داشت. مطالعه سمیت در NHP برای شناسایی مخاطرات است. بنابراین در مطالعه از یک گروه تحت آزمون و گروه کنترل با توجه علمی میتوان استفاده نمود.

۴.۶.۳. زمان بندی مطالعه

اگر قبل از بدست آوردن اطلاعات EFD حیوانات ماده در سن بارداری در مطالعه بالینی شرکت داده می شوند، مدیریت ریسک لازم است. به عنوان مثال باید از متدهای قوی ضدبارداری استفاده شود. برای فرآورده های مشتق از DNA که از نظر فارماکولوژیکی در NHP فعال هستند وقتی جلوگیری از بارداری امکانپذیر باشد، مطالعه EFD و ePPND در طول انجام فاز ۳ مطالعه بالینی انجام و گزارش می شود. ولی وقتی پیشگیری از بارداری امکانپذیر نباشد، گزارش مطالعه EFD و ePPND باید قبل فاز ۳ مطالعه بالینی گزارش شود. وقتی مکانیسم فرآورده عوارض روی بارداری را مشخص کند، در بروشور باید ذکر شود که در زنان باردار نباید این فرآورده مصرف شود. در مورد جوندگان توصیه های مطالعه انکولوژی باید رعایت گردد.

۷.۳. تحمل موضعی

تحمل موضعی ترجیحا باید با فرمولاسیون نهایی که وارد بازاری شود، ارزیابی گردد. در صورت امکان اثرات جانبی احتمالی فرآورده را در مطالعات تک دوز یا دوز مکرر میتوان ارزیابی نمود و مطالعه مجزای دیگری لازم نیست.

۸.۳. سایر مطالعات سمیت

۱.۸.۳. تشکیل آنتی بادی

ارزیابی های ایمنی زایی در حیوانات بایستی بمنظور کمک به تفسیر نتایج مطالعه و پیشرفت طراحی مطالعات بعدی انجام شود. چنین آنالیزهایی در مطالعات حیوانی معمولا از نظر پیش بینی احتمال ایمنی زایی در انسان مناسب نیستند. به این دلیل تشکیل آنتی بادی علیه هورمون های اندوژن مثل اریتروپوئیتین و سوماتروپین باید در سطوح بالینی ارزیابی شود.

اندازه گیری آنتی بادی در مطالعات غیر بالینی در موارد زیر باید ارزیابی شود:

(الف) شواهد فعالیت فارماکودینامیک تغییر یافته

(ب) تغییر غیرمنتظره در غیاب مارکر فارماکودینامیک

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

ث) شواهد مبتنی بر واکنشهایی با واسطه سیستم ایمنی (بیماری سیستم ایمنی، واسکولیت، آنافیلاکسی)

با توجه به اینکه قبل از تکمیل مطالعه مشخص نیست که چنین آنالیز هایی لازم است یا نه ، بهتر است در طول مطالعه نمونه گیری مناسب صورت پذیرد تا در صورت لزوم آنالیز شوند. وقتی آنتی بادی های ضد دارو شناسایی شد، اثر آن در تفسیر نتایج تولید آنتی بادی می بایست ارزیابی شود. آنتی بادی ها باید مشخصه سازی شوند (تیترا آنتی بادی، تعداد حیواناتی که پاسخ دادند، فعالیت خنثی کنندگی یا غیر خنثی کنندگی) و ایجاد آن با تغییرات فارماکولوژیکی و توکسیکولوژیکی مطابقت داده شود. به طور اختصاصی اثرات تشکیل آنتی بادی بر روی پارامتر های PK/PD ، بروز یا شدت عوارض جانبی، فعالیت کمپلمان و اثرات سمی غیر قابل پیش بینی، در زمان تفسیر داده ها می بایست بررسی شود. به تغییرات پاتولوژیک مربوط به کمپلکس ایمنی باید توجه شود. وقتی آنتی بادی علیه دارو شناسایی شد و تغییرات PD در مطالعات توکسیکولوژی مشاهده نشد، مشخص کردن قدرت خنثی کنندگی ضروری است.

تشخیص آنتی بادی نباید تنها ملاک پایان دادن به مطالعه غیر بالینی سلامت و یا اصلاح مدت مطالعه باشد، مگر اینکه پاسخ ایمنی اثرات فارماکولوژیک و یا سمی فرآورده بیوتراپوتیک را در تعداد زیادی از نمونه ها خنثی کند. در اکثر موارد پاسخ ایمنی به فرآورده بیوتراپوتیک مشتق از DNA در حیوان نیز مانند انسان متفاوت می باشد.

۱.۱.۸.۳. تست آنافیلاکسی

وقوع پاسخ های آنافیلاکسی شدید به داروهای بیولوژیک مشتق از DNA نوترکیب در انسان ها رایج نیست. بر این اساس، نتایج آزمایشات آنافیلاکسی در خوکیه هندی، که بطور کلی برای محصولات پروتئینی مثبت هستند، برای پیش بینی واکنش در نمونه انسانی قابل تعمیم نیستند.

۲.۸.۳. مطالعات ایمونوتوکسیسیته

یکی از جنبه های ارزیابی ایمونوتوکسیسیته، ارزیابی پتانسیل ایمونونویسیته می باشد. بیشتر فرآورده های بیوتراپوتیک سیستم ایمنی را سرکوب یا تحریک می کنند بنابراین ممکن است بر روی ایمنی هومورال یا سلولی اثر بگذارند. واکنش های التهابی در محل تزریق ممکن است نشان دهنده پاسخ تحریکی باشد. ترومای ساده ناشی از تزریق باید از اثر توکسیک اختصاصی مربوط به فرمولاسیون تشخیص داده شود. بیان آنتی ژن های سطحی بر روی سلول های هدف ممکن است بر اثر واکنش اتوایمن تغییر کند. برای تشخیص این اثر مطالعات بیشتری لازم است.

در موارد زیر به ارزیابی بیشتری نیاز می باشد:

(۱) زمانی که عملکرد هدف با راه های متعدد سیگنالی درگیر است. (a target with pleiotropic effects)

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

۲) آبخار زیستی یا آزادشدن سایتوکاین ها، که منجر به تکثیر یک اثر می شود و با یک فیدبک کنترل نمی شود (مانند آنچه در سیستم ایمنی یا سیستم کواگولاسیون خون رخ می دهد).

۳.۸.۳. مطالعات واکنش های بافتی متقاطع (Tissue cross reactivity studies)

مطالعات ^{۱۴}TCR ارزیابی آزمایشگاهی، اتصال بافتی با استفاده از تکنیک ایمونو هیستولوژیکال IHC^{۱۵} می باشد. در این روش اتصال مونوکلونال آنتی بادی و یا سایر مواد مشابه را به نقاط آنتی ژنیک در بافت بررسی می کند. از سایر روش ها برای ارزیابی توزیع در محل اتصال هدف میتوان استفاده نمود.

انجام یک مطالعه TCR با یک قطعه از بافت انسانی برای تأیید دوز اولیه بالینی توصیه می شود. اگر چه در برخی موارد داروی مورد نظر برای واکنش ایمونو هستولوژیکال مناسب نبوده و مطالعات TCR امکانپذیر نمی باشد. مطالعات TCR می تواند اطلاعات مفیدی از توزیع در منطقه هدف و اتصالات غیرمنتظره ارائه دهد. اتصال بافتی را نمی توان به عنوان فعالیت بیولوژیک *in vivo* - تلقی کرد. علاوه بر آن اتصال دارو به مناطقی که در بدن انسان دور از دسترس دارو خواهند بود، مثلاً سیتوپلاسم ارزش ارزیابی بالینی ندارد و یافته ها را باید به عنوان داده های فارماکولوژیکی و سلامت در نظر گرفت. هنگامی که اتصال غیر منتظره به بافت انسانی رخ می دهد (واکنش متقاطع) ارزیابی TCR در بافت مورد نظر در نمونه حیوانی اطلاعات مفیدی را در مورد ارتباط یا عدم ارتباط با سمیت پیش بالینی ارائه می نماید. TCR با استفاده از بافت کامل حیوانی توصیه نمی شود. وقتی یک آنتی بادی با دو نوع جایگاه اختصاصی در یک مطالعه TCR ارزیابی می شود، نیازی به بررسی اجزای اتصال با استفاده از بافت انسانی نمی باشد. ارزیابی اتصال بافتی فرآورده های هومولوگ مفید نبوده و توصیه نمی شود.

۴.۸.۳. ناخالصی ها

وجود ناخالصی ها و آلودگی، ایمنی فرآورده را به مخاطره می اندازند. مخاطرات بالقوه ناشی از آلودگی های سلول میزبان مشتق از باکتری، مخمر، حشره، گیاه و یا سلول پستاندار وجود دارد. وجود آلودگی های سلول میزبان ممکن است به واکنش های آلرژیک و اثرات ایمونوپاتولوژیک منجر شود. عوارض جانبی ایجاد شده توسط آلودگی نوکلئیک اسید شامل فیوز شدن در ژنوم میزبان از دیدگاه تئوریک مطرح است. خطر عفونت ویروسی در ارتباط با فرآورده های مشتق از حشره، گیاه یا سلول پستاندار یا گیاهان و حیوانات ترانس ژنیک وجود دارد. به هر حال در چنین مواردی بهتر است به تست های کنترل کیفیت و تولید اعتماد شود تا این که نتایج از طریق مطالعات غیربالینی اثبات گردد.

^{۱۴} Tissue cross-reactivity

^{۱۵} Immunohistochemical

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیوسیمیلار :

برای اثبات سلامت و اثر بخشی فرآورده بیوسیمیلار عموماً نیاز به ارائه اطلاعات غیر بالینی می باشد. زمانی که سوابق قابل قبول بالینی فرآورده RBP در دسترس است، اثبات تشابه مولکولی بین ^{۱۶}SBP و ^{۱۷}RBP تا حد زیادی محدوده مطالعات غیر بالینی را کاهش می دهد.

در هر حال، در فرآورده SBP می بایست پرونده مطالعه غیر بالینی با رویکرد ارزیابی سلامت ارائه گردد. ارزیابی سلامت فرآورده SBP با مشکلاتی مواجه است که مربوط به ماهیت فرآورده های بیوسیمیلار می باشد. این فرآورده ها :

- ممکن است فعالیت فارماکودینامیک وابسته به گونه داشته باشند و به این دلیل یافتن گونه مرتبط حیوانی برای بررسی اثرات فارماکودینامیک و توکسیکولوژی گاهی مشکل است.
- به عنوان پروتئین خارجی معمولاً پاسخ های آنتی بادی در مطالعات طولانی مدت ایجاد می کنند. بنابراین بدلیل ایجاد کمپلکس آنتی بادی با ماده دارویی تفسیر نتایج مطالعات تحت مزمن و مزمن دوز های مکررگاهی مشکل خواهد بود .

میزان مطالعات مورد نیاز غیر بالینی برای اثبات سلامت و اثر بخشی یک فرآورده بیوسیمیلار بستگی به نوع فرآورده و گروه دارویی آن خواهد داشت. عواملی که اغلب نیاز به انجام مطالعه غیر بالینی اضافه را ایجاد می نمایند شامل موارد زیر هستند: موارد مربوط به عامل کیفیت :

- تفاوت عمده در سیستم بیان سلولی در مقایسه با RBP
- تفاوت عمده در روش های خالص سازی
- حضور مخلوط کمپلکس فرآورده هایی که بخوبی مشخصه سازی نشده و یا ناخالصی های فرایند بخوبی شناسایی نشده اند.

موارد مربوط به ویژگی های فارماکوتوکسیکولوژیکی ماده دارویی :

- مکانیسم عمل دارو شناخته شده نیست و یا کاملاً مشخص نشده است.

^{۱۱} Similar biotherapeutic product

^{۱۷} Reference biotherapeutic product

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

- ماده دارویی سمیت بالایی داشته و یا شاخص درمانی باریکی دارد.

- تجربه مصرف بالینی فرآورده RBP محدود می باشد.

بر اساس عوامل فوق طیف مطالعاتی که برای اثبات سلامت و اثر بخشی فرآورده بیوسیمیلار لازم است، متغیر می باشد لذا می بایست مورد به مورد بررسی شود. مثلا در مورد ماده دارویی با پیچیدگی های بالا که مشخصه سازی آن با روش های آنالیتیکال موجود به راحتی امکان پذیر نیست و شاخص درمانی باریکی دارد، برنامه مطالعات غیر بالینی بخش قابل توجهی از مطالعات درخواست شده در راهنما های مرجع را شامل خواهد شد. از سوی دیگر فرآورده هایی که در مورد آنها ماده موثره و پروفایل ناخالصی با روش های آنالیتیکال معمول بخوبی شناسایی شده اند و شاخص درمانی وسیعی دارند و تجربیات بالینی زیادی در دسترس است، مطالعه غیر بالینی محدود تر خواهد شد.

اغلب مطالعه سمیت مقایسه ای، برای ارزیابی غیر بالینی فرآورده بیوسیمیلار به عنوان بخشی از مطالعات کلی مقایسه ای لازم است. مطالعه باید ماهیت مقایسه ای داشته باشد و طوری طراحی شده باشد که تفاوت پاسخ ها را بین یک SBP و یک RBP تشخیص دهد. بررسی پاسخ SBP به تنهایی کافی نیست و در صورت طراحی چنین مطالعه ای باید توجیه کافی ارائه شود.

تعیین مقادارها مانند مطالعه اتصال به رسپتور و یا آنالیز هایی بر پایه سلول (مانند بررسی های سایتوتوکسیسیته و یا تکثیر سلولی) باید عموما به منظور مقایسه فعالیت بیولوژیک فارماکودینامیک SBP و RBP انجام شود. این اطلاعات در بخش کیفی فرآورده ارائه می شوند.

مطالعات حیوانی باید ماهیت مقایسه ای داشته و در گونه شناخته شده مربوطه انجام شوند (برای نمونه گونه ای که در RBP دارای اثرات فارماکودینامیک و یا توکسیکولوژیک می باشد) و از تکنیک های با دقت و حساسیت کافی در آنالیز ها استفاده شود. در صورت وجود مدل حیوانی مناسب موارد زیر در مطالعه حیوانی پایش شوند :

- اگر روش های آزمایشگاهی معتبری برای تعیین مقدار (Assay) در دسترس باشند، آزمون In-vivo فعالیت بیولوژیک فارماکودینامیک الزامی نیست.

- فعالیت بیولوژیک فارماکودینامیک مرتبط با کاربرد بالینی که اغلب در بخش کیفیت فرآورده ارائه می شود.

- در صورت امکان فعالیت بیولوژیک را به عنوان بخشی از مطالعه سمیت دوز مکرر در مطالعه غیر بالینی ارزیابی نمود.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

- بررسی سمیت غیر بالینی در حداقل یک مطالعه دوزهای مکرر در یک گونه مرتبط و شامل ارزیابی های توکسیکوکینتیک بررسی شود. این اندازه گیری ها شامل تعیین و مشخصه سازی پاسخ آنتی بادی، تیترا آنتی بادی ضد فرآورده، واکنش های متقابل با پروتئین های هومولوگ درونی و ظرفیت خنثی کردن فرآورده می باشد. مدت مطالعه باید به اندازه کافی طولانی باشد تا تشخیص تفاوت های بالقوه در سمیت و پاسخ های آنتی بادی بین RBP و SBP امکان پذیر باشد. علاوه بر اینکه بخشی از مطالعه بررسی مقایسه ای است ولی مطالعه مقایسه ای سمیت دوز تکرار شونده، مجددا این اطمینان را ایجاد می کند، که هیچ سمیت غیر منتظره ای در طی مصرف بالینی SBP رخ نخواهد داد.

با اینکه ارزش پیش بینی کننده مدل های حیوانی برای ارزیابی ایمونوژنیسیته در انسان ها پایین در نظر گرفته شده است، در جایی که تفاوت های عمده بین SBP و RBP در ساختار و یا وجود ناخالصی های ایمونوژنیک بین RBP و SBP وجود داشته باشد (پاسخ ایمونولوژیک ممکن است به تفاوت هایی که توسط روش های آنالیتیکال آزمایشگاهی تشخیص داده نشده اند، حساس باشد) در صورت امکان باید در مطالعه سمیت دوز تکرار شونده اندازه گیری آنتی بادی به عنوان بخشی از مطالعه مقایسه ای کلی انجام شود تا به تفسیر اطلاعات توکسیکوکینتیک کمک کند.

بر اساس راه مصرف، گاهی لازم است تحمل موضعی ارزیابی گردد. این ارزیابی ممکن است به عنوان بخشی از مطالعه سمیت دوز مکرر انجام گیرد.

عطف به مطالعه مقایسه ای که در بخش کیفیت بین RBP و SBP انجام شده است، معمولا سایر مطالعات سمیت مانند سلامت فارماکولوژیکی، سمیت تولید مثل، ژنوتوکسیسته و کارسینوژنیسیته عموما برای SBP الزامی نیست مگر اینکه نتایج سمیت دوز مکرر و یا تحمل موضعی و یا سایر خصوصیات توکسیکولوژیک RBP (مانند عارضه جانبی شناخته شده RBP روی عملکرد تولید مثل) انجام این مطالعه را الزامی سازد.

راهنمای ملی مطالعات غیر بالینی در فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۳۹۸/۰۲/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-002	شماره
۱۴۰۰/۰۲/۰۱	تاریخ اعتبار	۰۰	شماره بازنگری

منابع:

1. WHO Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines.WHO Technical Report Series, No. 927, Annex 1.
2. WHO Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology .WHO Technical Report Series, No. 987 ,Annex 4
3. WHO Guideline on evaluation of similar biotherapeutic product (SBPs)
4. راهنمای اخلاقی پژوهش بر حیوانات