



**ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

**Лекарственные препараты, полученные
из крови, плазмы крови
человека и животных. История
разработки и применения.
Вирусная безопасность**

Биологические лекарственные препараты



- *лекарственные препараты, действующее вещество которых произведено или выделено из биологического источника и для определения свойств и качества которых необходима комбинация биологических и физико-химических методов.*
- *к биологическим лекарственным препаратам относятся иммунобиологические лекарственные препараты, лекарственные препараты, полученные из крови, плазмы крови человека и животных (за исключением цельной крови), биотехнологические лекарственные препараты, генотерапевтические лекарственные препараты*

Определение биологических лекарственных препаратов



Европейский Союз

биоподобный лекарственный препарат
(биосимиляр)

биологический лекарственный препарат, который содержит версию действующего вещества зарегистрированного биологического оригинального (референтного) препарата и для которого продемонстрировано сходство (подобие) на основе сравнительных исследований с оригинальным лекарственным препаратом по показателям качества, биологической активности, эффективности и безопасности

Российская Федерация (ФЗ-61 от 22.12.14)

биоаналоговый (биоподобный)
лекарственный препарат (биоаналог)

биологический лекарственный препарат, схожий по параметрам качества, эффективности и безопасности с референтным биологическим лекарственным препаратом в такой же лекарственной форме и имеющий идентичный способ введения

Различия между лекарственными препаратами химической и биологической природы



| Показатель | Химические препараты | Биологические препараты |
|-----------------------------------|---|--------------------------------------|
| Молекулярная масса | Низкая – менее 1 кДа | Высокая – более 1 кДа |
| Происхождение | Вещества химического синтеза (ксенобиотики) | Аналогичны белкам организма человека |
| Стабильность | Стабильны | Термочувствительны |
| Химическая структура | Хорошо охарактеризована, гомогенная | Гетерогенная композиция |
| Метаболизм | Метаболизм с образованием активных и неактивных продуктов | Катаболизм как эндогенных белков |
| Роль цитохрома Р450 в метаболизме | Участвует | Не участвует |
| Путь введения | Преобладает оральный | Парентеральный |

Биологические\биотехнологические препараты обладают преимуществом, в сравнении с химическими препаратами



- *лечение многих заболеваний возможно только биологическими\биотехнологическими препаратами (гемофилия, гипофизарный нанизм, сахарный диабет, анемия, аллергия и др.);*
- *биологические\биотехнологические препараты обладают таргетным (направленным) действием;*
- *биологические\биотехнологические препараты почти нетоксичны (метаболизм как у эндогенных белков);*
- *и др.*



Особенности производства биопрепаратов

- 1 Уникальная линия клеток из разных живых систем от E.coli и дрожжей до трансгенных животных и растений.
- 2 Посттрансляционные модификации.
- 3 Белок легко подвержен чужеродной контаминации.
- 4 Минимальные отклонения в процессе производства вызывают большие изменения в характеристиках препарата.
- 5 Риск развития иммуногенности ассоциирован с особенностями препарата (структура белка, п/т модификации, агрегаты, примеси).
- 6 Необходимость проведения исследований сопоставимости после изменений производственного процесса.
- 7 Значительная индивидуальная вариабельность эффектов.
- 8 Различные показатели безопасности при применении по разным показаниям.



История создания и разработки

- 1840 Впервые было произведено переливание крови мальчику с А и неконтролируемым кровотечением
- 1923 Eli Lilly наладила производство и выпуск инсулина животного происхождения
- 1939 Контейнер Transfuso Vac (хранение крови до 21 дня)
- 1942 Cutter внедрил фракционирование плазмы и разработал способ получения альбумина
- Альбумин – первый препарат крови
- 1959 Pool и Robinson обнаружили, что при оттаивании замороженной плазмы в образующемся осадке содержится большая часть антигемофильной активности плазмы
- Криопреципитат – второй препарат крови
- 1968 Первый препарат фактора VIII
- 1979 Автоматизированный сепаратор форменных элементов



История создания и разработки

- 1981 Первый препарат внутривенного иммуноглобулина (Miles Inc., Гамимун)
- 1982 Eli Lilly наладила производство и выпуск инсулина человеческого происхождения (генно-инженерного)
- 1982 Препарат фактора VIII, обработанный сухим теплом
- 1983 Термическая обработка как метод инактивации вирусов
Альбумин – первый препарат крови
- 1983 Компания Октафарма получила патент на технологию обработки сольвентом-детергентом
- 1985 Препарат фактора VIII Окта ВВ, прошедший обработку сольвентом-детергентом
- 1986 Первый препарат (мышинное антитело) созданный при помощи гибридомной технологии — Orthoclone OKT3 (муромонаб-CD3) - предназначался для снижения иммунного отторжения при трансплантации органов
- 1987 FDA одобрило фермент Алтеплаза к использованию



История создания и разработки

- 1988 Препарат фактора VIII, очищенный моноклональными антителами
- 1992 Широкое внедрение обработки сольвентом-детергентом как эффективного метода инактивации оболочечных вирусов
- 1994 Внедрена рекомбинантная глюкоцереброзидаза (имиглуцераза) для лечения болезни Гоше (производят с использованием клеток яичников китайского хомячка)
- 1994 Первое химерное терапевтическое моноклональное антитело, появившееся на рынке, — абциксимаб — предназначалось для предотвращения агрегации тромбоцитов во время оперативных вмешательств
- 1998 первое гуманизированное антитело «Герцептин» (трастузумаб) — препарат, прицельно воздействующий на сверхсинтезированный рецептор HER2 с целью лечить агрессивную и смертоносную форму рака молочной железы
- 2002 Адалimumаб — первое полностью человеческое антитело, связывает и ингибирует фактор некроза опухоли (TNF) — ключевой провоспалительный цитокин
- 2011 Одобрены к использованию несколько препаратов моноклональных антител, способных связываться с контрольными точками иммунного ответа - пембролизумаба, ниволумаба и ипилимумаба



Как создаются препараты?

Плазма — основной материал для создания препаратов крови.

Два способа получения свежезамороженной плазмы:

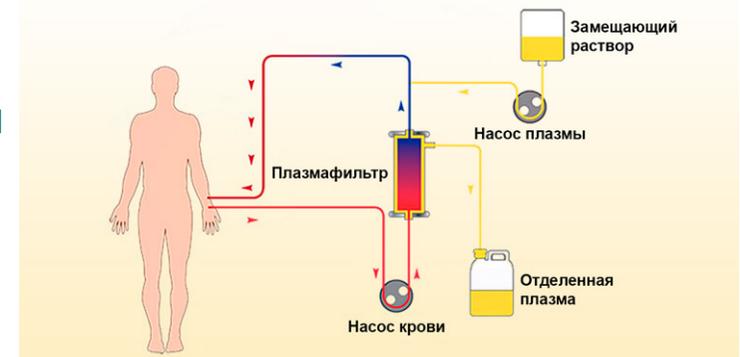
плазмаферез (процедура, при которой часть забранной крови возвращают донору);

центрифугирование цельной крови.

Плазма может храниться до трёх лет и перед использованием ее размораживают при температуре 35–37 °С.

Готовые препараты выпускают фармакологические компании и иногда центры крови.

ПЛАЗМАФЕРЕЗ



Центрифугирование





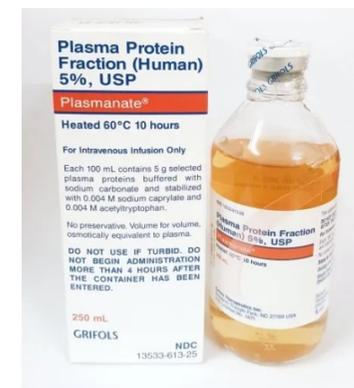
Для чего нужны белковые препараты крови?

К белковым препаратам относятся **альбумин** и **протеин**.

Они необходимы при травматическом и операционном шоках, ожогах, циррозе печени.

Альбумин применяется при поражении желудочно-кишечного тракта и при многих других болезнях.

Протеин нужен для повышения артериального давления и необходим в послеоперационный период, чтобы повысить содержание белка в организме. При сильной кровопотере этот препарат дополнительно сочетают с переливанием донорской крови.



Как применяются корректоры свертывающей системы крови?



Криопреципитат, протромбиновый комплекс, тромбин — это далеко не весь перечень препаратов, которые корректируют свертываемости крови.

В криопреципитате нуждаются больные гемофилией А (это наследственная болезнь, проявляющаяся несвертываемостью крови)



В протромбиновом комплексе — больные гемофилией Б



Тромбин нужен для остановки капиллярных кровотечений.



Чем помогут иммунологические препараты крови?



Гамма-глобулин и полиглобулин — препараты, необходимые для профилактики кори, инфекционного гепатита, коклюша, полиомиелита, столбняка и клещевого энцефалита.



Антистафилококковый гамма-глобулин нужен для взрослых и детей со стафилококковым сепсисом, остеомиелитом и перитонитом.



Антирезусный гамма-глобулин применяют при резус-конflikте между матерью и плодом.



Гамма-глобулин противогриппозный применяется для лечения гриппа, в том числе его токсичных форм.



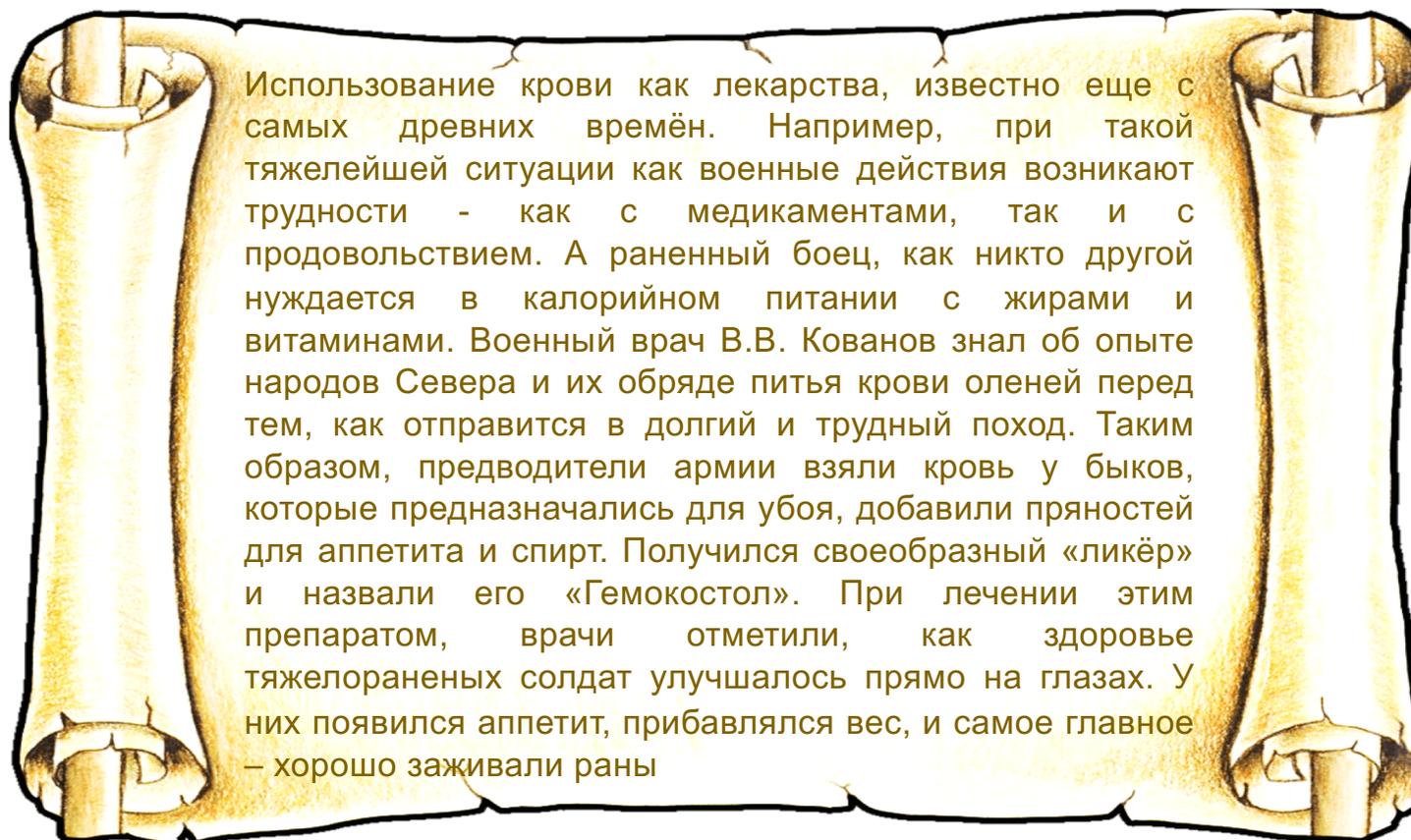
Иммуноглибулин против клещевого энцефалита





Препараты из крови животных

Проблема лекарств, которые производят из крови различных животных, на сегодняшний день сильно волнует большое количество врачей, ученых и пациентов во всем мире. Причиной этого является высокий риск передачи инфекций и так называемых «прионных болезней»





Препараты из крови животных



«Актовегин» депротенизированный гемодериват крови телят. Препарат, активизирующий обмен веществ в тканях, улучшающий трофику и стимулирующий процесс регенерации. Антигипоксанта, оказывающий три вида эффектов: метаболический, нейропротекторный и микроциркуляторный

В составе комплексной терапии: когнитивных нарушений, включая постинсультные когнитивные нарушения и деменцию; нарушений периферического кровообращения и их последствий; диабетической полиневропатии.



«Солкосерил» депротенизированный гемодиализат, содержащий широкий спектр низкомолекулярных компонентов клеточной массы и сыворотки крови молочных телят с молекулярной массой 5000 D. Препарат, улучшающий трофику и регенерацию тканей.

Применяют при незначительных повреждениях (ссадины, царапины, порезы); ожогах 1 и 2 степени (солнечные ожоги, термические ожоги); обморожении; трудно заживающих ранах (в т.ч. трофические язвы и пролежни).

«Гематоген» производят из дефибринированной сухой крови КРС. Источник полноценного белка, жиров, углеводов. Минеральные вещества и все аминокислоты содержатся в оптимальном для организма соотношении. Препарат повышает содержание гемоглобина в крови, улучшает морфологические характеристики эритроцитов.



Препараты из крови животных



«Гематоген» производят из дефибринированной сухой крови КРС. Источник полноценного белка, жиров, углеводов. Минеральные вещества и все аминокислоты содержатся в оптимальном для организма соотношении. Препарат повышает содержание гемоглобина в крови, улучшает морфологические характеристики эритроцитов. Стимулирует кроветворение, способствует всасыванию железа в кишечнике, повышает содержание гемоглобина в крови, увеличивает содержание ферритина в плазме.

Используют при неполноценном питании; железодефицитной анемии; в период реконвалесценции заболеваний.



Фибринные пленки (или гемостатические губки) получают из стабилизированной крови КРС или свиней. При наложении на раневую поверхность создают благоприятные условия для регенерации тканей, способствуя быстрому заживлению ран. Оказывают анальгезирующее действие, изолируют кожные рецепторы от различных раздражителей и предохраняют рану от механических поражений и проникновения инфекции.

Показания: капиллярные и паренхиматозные кровотечения (из различных органов и тканей), кровотечения из синусов твердой мозговой оболочки, альвеолярное кровотечение; кровотечения на фоне стоматологических вмешательств; трофическая язва, пролежни, раны, ЧМТ; заполнение дефектов паренхиматозных органов; профилактика спаечного процесса при полостных операциях; покрытие обширных скальпированных ран кожных покровов травматического происхождения, особенно с склонностью к повышенной кровоточивости.

Нежелательные эффекты препаратов, получаемых из крови



Ускоренное выведение препарата

Снижение эффективности (нейтрализующие антитела)

Развитие аллергических реакций

Проблема безопасности препаратов крови

Говоря о безопасности препаратов крови, следует учитывать, что данную проблему необходимо рассматривать с двух позиций:

- гарантированное отсутствие в препаратах возбудителей гемотрансмиссивных инфекций (ВИЧ 1, 2, вирус гепатита В, гепатита С другие микроорганизмы)
- обеспечение минимального проявления побочного действия, обусловленного воздействием препарата как такового



Вирусная безопасность

При производстве лекарственных средства могут подвергаться вирусной контаминации. Риск вирусной контаминации возможен для всех лекарственных средств, при производстве которых используют сырье и материалы животного или человеческого происхождения.

Основными причинами ее возникновения являются использование инфицированных материалов (сырье, клеточные культуры) и случайное внесение вируса в ходе производственного процесса.

Риск вирусной контаминации возможен для ЛС, произведенных:

- из крови, мочи и других биологических жидкостей человека или животных;
- из органов и тканей человека или животных;
- с применением метода культивирования *in vivo*;
- при культивировании *in vitro* клеточных линий человеческого или животного происхождения.

Общая фармакопейная статья не распространяется на нетрадиционные трансмиссивные агенты, такие, как возбудители трансмиссивной губчатой энцефалопатии крупного рогатого скота и скрепи (почесухи) овец и коз.

Требования, предъявляемые к обеспечению вирусной безопасности для ЛС, полученных с использованием материалов человеческого или животного происхождения, устанавливаются уполномоченным органом в соответствии с требованиями действующих нормативно-правовых актов РФ



Риски вирусной контаминации

Основные причины контаминации вирусами лекарственных средств:

- использование исходного материала, полученного от инфицированного человека или животного;
- посторонние вирусы, привнесенные в процессе производства ЛС;
- использование контаминированных реактивов и продуктов животного происхождения в процессе производства ЛС;
- инфицированные донорские клетки и клеточные линии, контаминированные вирусами до их использования в качестве ГБК и РБК;
- контаминирующий вирус, привнесенный при создании производственной клеточной линии в ненадлежащих условиях.

Для обеспечения вирусной безопасности ЛС при производстве, должны проводиться следующие мероприятия:

1. отбор и испытание исходного сырья, и источника материалов на отсутствие вирусов, патогенных для человека;
2. оценка возможностей инаktivации и/или элиминации вирусного агента в ходе производственного процесса;
3. проведение испытаний на отсутствие вирусной контаминации на критических стадиях производства.

При этом необходимо учитывать, что ни одно из перечисленных мероприятий не дает полной гарантии отсутствия вирусов, поэтому необходимо использовать комплексный подход. Меры, принимаемые для управления риском вирусной контаминации ЛС, при производстве которых используется исходное сырье и материалы животного или человеческого происхождения, сводятся к минимизации риска, а не его исключению. Любой остаточный риск должен быть оценен в связи с возможной пользой от применения конкретного материала или сырья при производстве ЛС.



Требования к исходному сырью

Для минимизации риска вирусной контаминации при отборе исходного сырья и материалов необходимо соблюдать следующие условия:

1. Сырье человеческого происхождения (кровь, моча, или другие биологические жидкости человека) заготавливают от здоровых доноров. Доноры крови и плазмы крови, мочи, или других биологических жидкостей должны проходить обследование в соответствии с нормативно-правовыми документами, действующими на территории РФ.
2. Сырье животного происхождения следует отбирать только от животных из хозяйств, благополучных по инфекционным заболеваниям. Сырье должно подлежать обязательной ветеринарно-санитарной экспертизе в соответствии с требованиями нормативно-правовых актов, действующих на территории РФ и сопровождаться соответствующими подтверждающими документами.
3. Следует определять род и источник происхождения животных, предназначенных для производства биотехнологических лекарственных препаратов, включая генотип и возраст. Животные должны быть взяты из хозяйств закрытого типа, благополучных по инфекционным заболеваниям. Статус хозяйства должен подтверждаться соответствующими документами.
4. Материалы и реагенты биологического происхождения (такие, как бараньи эритроциты, сыворотка эмбрионов телят, бычий сывороточный альбумин, человеческий трансферрин, инсулин, трипсин и др.), питательные среды, используемые при производстве лекарственных средств, должны быть свободны от вирусной контаминации и иметь необходимое качество.

Процессы вирусной инактивации или элиминации



При необходимости вирусной элиминации и/или инактивации вирусов в составе ЛС исходное сырье и материалы подвергаются обработке следующими методами:

- физическими (стерилизация, обработка паром, сухой нагрев, радиация, фильтрация; (стерилизация насыщенным водяным паром под давлением, горячим воздухом, фильтрованием, ионизирующим излучением);
- химическими (разрушение суперкапсида оболочечных вирусов, содержащего липиды, с помощью детергентов);
- комбинированными (нейтрализация специфическими антителами, удаление вирусов хроматографическими методами, нагревание в форме суспензии с химическими агентами и другими).

Любой из используемых методов обработки должен быть валидирован и должен обеспечивать значительное снижение риска вирусной контаминации лекарственных средств при их производстве.

Способы, используемые для инактивации или элиминации вирусов



| Способ | Суть способа | Ограничения способа |
|--|---|--|
| Пастеризация жидкого продукта | Нагревание продукта при температуре 60 °С в жидком состоянии 10–12 ч | Риск заражения вирусами гепатитов В и С существует при использовании пастеризованных концентратов; необходимость использования больших концентраций протекторов, в основном углеводов с различными добавками, для защиты лабильных белков плазмы от денатурации. Одновременно они стабилизируют и вирусы |
| Химическая инактивация вируса в жидком продукте | Основан на способности химических веществ разрушать липидную оболочку вирусов. Использование растворителей (solvent-detergent method; SD-метод) для удаления липидной оболочки | Применение ограничено из-за лабильности белков плазмы крови. Способ применим для инактивации вирусов, имеющих липидную оболочку. Малоэффективен для инактивации вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию. SD-метод запрещен в США из-за ассоциации с развитием у отдельных пациентов тромбозов. Может приводить к снижению биологической активности препарата и к образованию аутоантител. Например, метод, использующий метиленовую синь, снижал активность фибриногена на 65%; фактора свертывания крови VIII на 67% |
| Химическая обработка + ультрафильтрация продукта | Присоединение к химической обработке метода ультрафильтрации | Необходимость удаления продуктов распада вирусов требует введение дополнительных этапов очистки препарата крови |
| Ультрафиолет + химические вещества | Плазму и ее препараты подвергают облучению светом в ультрафиолетовом диапазоне в присутствии малых концентраций химических веществ – красителей (метиленовый синий и др.) | Способ применим для инактивации вирусов, имеющих липидную оболочку. Малоэффективен для инактивации вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию. Удаление продуктов распада вирусов требует дополнительных этапов. Возможна частичная денатурация терапевтических белков и образование к ним аутоантител |
| Обработка лиофилизата паром | Леофилизат подвергают обработке горячим паром в закрытой системе, заполненной инертным газом под давлением в течение 1–10 ч | В некоторых препаратах обнаруживали вирус гепатита В |
| Сухой прогрев лиофилизата | Инактивация вирусов происходит при нагреве лиофилизата при температуре 68°С в течение 32–60 ч | В концентрированных негомогенных препаратах сохранились вирусы гепатитов В, С и ВИЧ |
| Жесткая термообработка лиофилизата | Прогрев до температуры 80°С в течение 72 ч | Требуются протекторы, возможна частичная денатурация белков. Возможно сохранение в препарате вирусов, вызывающих гепатит А или парвовирусную инфекцию |
| Хроматография (гель-фильтрация, аффинная и ионообменная хроматография) | Разделение происходит в результате межмолекулярного взаимодействия белков оболочки вируса с сорбентом | Хроматографические способы малоэффективны при удалении безоболочечных вирусов. Обычно их применяют для получения из плазмы крови минорных белков |
| Ультрафильтрация | Механическое отделение вирусов за счет их больших размеров, чем у белков плазмы. Способ эффективен для удаления оболочечных и безоболочечных вирусов. Фильтры с размером пор 15–20 нм позволяют отделить вирус гепатита А и вирус В19 от фактора IX | Используется как этап многостадийных методов очистки крови от вирусов. Размеры частиц вируса, вызывающего гепатит А, находятся в пределах 25–30 нм; вируса В19 – в пределах 18–26 нм; вируса, вызывающего гепатит С, 28–30 нм; размеры вирусов герпетического семейства в пределах 120–300 нм; капсид ВИЧ – 100–120 нм |
| Ультракороткие импульсы лазерного излучения (длина волны 425 нм) | Разрушение вирусов в жидкой среде. Способ эффективен для удаления оболочечных и безоболочечных вирусов | Нет данных |

Процессы вирусной инактивации или элиминации



В настоящее время нельзя считать преодоленными все проблемы, возникающие при получении препаратов медицинского назначения из плазмы крови человека и сывороток крови животных.

Анализ технологий получения таких препаратов по «опережающим объектам», показывает, что отрасль находится в постоянном поиске новых путей очистки белков плазмы крови, которые были бы более щадящими и гарантировали вирусную безопасность препаратов.

В тоже время нельзя не заметить исчерпание возможностей дальнейшего развития базовых технологий очистки препаратов крови за пределы частных усовершенствований.

Параллельно происходит развитие технологий, исключающих необходимость работы с донорской кровью и гипериммунными сыворотками животных, позволяющих получать препараты крови по технологиям генной инженерии.

Принципиально меняются и сами препараты. На рынок выходят рекомбинантные факторы свертывания крови с измененными свойствами; коктейли из рекомбинантных антител и Fab-фрагментов IgG, высокоаффинных к эпитопам токсинов и др.

Происходит вытеснение этими препаратами препаратов, получаемых из плазмы крови человека и животных.

Поэтому в ближайшие годы в России необходимо создавать принципиально новую систему оценки качества, эффективности и безопасности препаратов крови, учитывающую дальнейшее направление их развития.



ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

БЛАГОДАРЮ
ЗА ВНИМАНИЕ!