

Современные подходы к оценке фармакокинетики и фармакодинамики биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека в рамках I фазы клинического исследования

© Проскурина И.А.¹, Майоров А.Ю.^{2,3}, Горячев Д.В.¹, Бунятян Н.Д.¹

¹ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России, Москва

²ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава России, Москва

³ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

В соответствии с современными требованиями, для подтверждения биоподобности генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека необходимо доказать, что они по своему качеству, фармакокинетическому и фармакодинамическому профилям, безопасности и иммуногенности не отличаются от препарата сравнения. При проведении клинических исследований с целью подтверждения биоподобности препаратов необходимо придерживаться поэтапного подхода, начиная их с исследования фармакокинетики и фармакодинамики. В соответствии с современными подходами, оценка фармакокинетики и фармакодинамики биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека проводится в рамках двойного слепого рандомизированного перекрестного эугликемического гиперинсулинемического клэмп-исследования.

В статье рассмотрены основные подходы к оценке фармакокинетических и фармакодинамических параметров генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека при проведении эугликемического гиперинсулинемического клэмп-исследования. Представлена методология проведения клэмп-исследования, включающая описание требований к выбору исследуемой популяции, дизайну и условиям проведения исследования, методам подавления эндогенного инсулина; рекомендации по дозам препаратов, длительности исследования, выбору основных и дополнительных конечных фармакокинетических и фармакодинамических показателей биоподобных препаратов инсулина в зависимости от длительности их действия.

Ключевые слова: биоподобные препараты; генно-инженерные препараты человеческого инсулина; аналоги инсулина человека; эугликемическое гиперинсулинемическое клэмп-исследование

Modern approach to the evaluation of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of biosimilar recombinant human insulin and insulin analogues in phase I clinical study

Irina A. Proskurina¹, Aleksandr Y. Mayorov^{2,3}, Dmitriy V. Goryachev¹, Natalya D. Bunyatyan¹

¹Scientific Center for Expert Evaluation of Medical Products, Moscow, Russian Federation

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

³I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

The quality, pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles, safety and immunogenicity must be compared to demonstrate the bio-similarities of recombinant human insulin and insulin analogues. To confirm these bio-similarities in clinical studies, it is necessary to adhere to a multi-phased approach, starting with the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the study drugs. In this article, in accordance with modern approaches to drug research, evaluation of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human insulin and analogues of human insulin (biosimilar drugs) is performed in a double-blind, randomised crossover euglycaemic hyperinsulinaemic clamp study. This article describes the main approaches to the evaluation of the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of recombinant human insulin preparations and insulin analogues during a euglycaemic hyperinsulinaemic clamp study. The inclusion criteria for the sample selection, design and conditions of the study, methods for the suppression of endogenous insulin, recommendations for doses of drugs, duration of the study and choice of primary and secondary pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters for bio-similar insulin products (which depend on the duration of their effects) are described.

Keywords: biosimilar; recombinant human insulin; insulin analogues; euglycaemic hyperinsulinaemic clamp-study

Появление биотехнологических лекарственных препаратов (ЛП) ознаменовало собой внедрение инновационных медицинских технологий в клиническую практику и создало новые возможности профилактики и лечения тяжелых заболеваний, в том числе и сахарного диабета (СД) [1].

Истечение срока действия патентной защиты на производство оригинальных биотехнологических ЛП является одним из основных факторов увеличения интенсивности разработки так называемых биоаналогичных (биоподобных) препаратов, в том числе и биоподобных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина. По прогнозам экспертов, биоподобные препараты в скором времени займут прочные позиции в клинической практике благодаря своим терапевтическим возможностям и умеренной стоимости по сравнению с оригинальными биотехнологическими препаратами.

Понятие «подобный биологический лекарственный продукт», или «биологически аналогичный» впервые было введено в Директиве Европейского Союза (ЕС) 2003 г. [2]. В данной Директиве указано, что биоаналогичные ЛП следует отличать от традиционных воспроизведенных ЛП, полученных путем химического синтеза.

Это отличие обусловлено особенностями самих биотехнологических препаратов, характеризующихся большим молекулярным весом, сложностью пространственной структуры, специфичностью производственного процесса с использованием «живых» клеточных линий, высоким риском иммуногенности и высокой чувствительностью к условиям хранения. Производство биотехнологических ЛП представляет собой сложный, многоэтапный процесс [3]. Промежуточный продукт, полученный в результате биологического синтеза, нуждается в сложной и многоступенчатой очистке. Даже при полном соблюдении технологии производства биологическая активность и клиническая эффективность биотехнологических препаратов могут отличаться от серии к серии.

Получить точную копию биотехнологического препарата практически невозможно. Все параметры сложного, многоэтапного и продолжительного процесса производства биотехнологических препаратов не могут быть повторены с точностью до мельчайших деталей. Хотя при производстве биоподобного препарата используются те же гены, что и в процессе производства оригинального ЛП, имеются существенные различия на других этапах технологического процесса, которые могут существенно повлиять на эффективность и безопасность конечного продукта. Даже небольшие изменения технологии производства могут привести к появлению непредсказуемых свойств конечного продукта из-за изменения молекулярной структуры белка, возникновения модификаций или дополнительных примесей. При этом существующие методы анализа не гарантируют выявления отличий между биоподобным и оригинальным ЛП при их наличии [4]. Эти и другие особенности производства биотехнологических препаратов диктуют необходимость разработки четких подходов к регистрации биологических аналогов.

Современные требования к подтверждению биоподобности препаратов инсулина в рамках доклинических и клинических исследований

В настоящее время в мире накоплен значительный опыт регулирования обращения биоподобных ЛП. Мировым лидером в области нормативно-правовых вопросов регулирования обращения биоподобных ЛП, полученных биотехнологическим путем, является Европейское Медицинское Агентство (ЕМА), которое с начала 2000-х гг. разработало более 45 официальных документов и специальных руководств, касающихся вопросов регулирования обращения биоподобных ЛП. В них сформулирована концепция биоподобных ЛП; содержатся основные общие положения по регулированию их обращения, требования к проведению их доклинических и клинических исследований, анализу качества, оценке иммуногенности, а также ряд приложений, уточняющих требования к исследованиям и регистрации отдельных биоподобных ЛП, полученных биотехнологическим путем, в том числе и препаратов инсулина [5]. Принципы, заложенные в этих документах, отразились в законодательстве некоторых стран.

В основу регулирования обращения биоаналогичных ЛП в ЕС положена концепция биоподобия, которая строится на пяти основных принципах: полноценные сравнительные аналитические, доклинические и клинические исследования, фармаконадзор и Надлежащая производственная практика (GMP) как гарантия стабильности качества.

В соответствии с требованиями ЕМА, биоподобный препарат должен обладать высокой степенью сходства с лекарственным препаратом сравнения (ЛПС) как по физико-химическим, так и по биологическим свойствам. Рекомендован поэтапный подход к исследованиям биоподобного препарата, включающий доклинические и клинические исследования. При этом объем исследований на каждом следующем этапе зависит от результатов предыдущего [6].

В настоящее время вопросы оценки биоподобности особенно актуальны для генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина.

С начала 2000-х гг. ряд компаний начали производство неоригинальных препаратов генно-инженерного человеческого инсулина в странах, где регулирующие правовые нормы в отношении биоподобных препаратов не были развиты или отсутствовали. В Российской Федерации также зарегистрированы и применяются генно-инженерные препараты человеческого инсулина различных производителей. Сравнительный анализ их фармакокинетических характеристик показал, что разные препараты инсулина с одинаковым международным непатентованным наименованием имеют различия по времени начала действия, пику и продолжительности действия [3], что, безусловно, влияет на эффективность инсулинотерапии. Из 16 биоподобных

препаратов, зарегистрированных на сегодняшний день в ЕС, не зарегистрирован ни один биоподобный препарат инсулина.

С сентября 2015 г. вступило в действие новое руководство ЕМА к проведению доклинических и клинических исследований биоподобных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека [7].

Вопросы обращения биотехнологических ЛП в Российской Федерации в настоящее время подняты на государственный уровень [8]. В Федеральный закон № 61 были внесены поправки и изменения, в соответствии с которыми в Статье 4 Федерального закона N 429-ФЗ от 22 декабря 2014 г. «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» дано определение биологического, биотехнологического и биоподобного препаратов [9].

Гармонизация с европейскими подходами к подтверждению биоподобности ЛП в Российской Федерации позволила разработать научно-методические подходы к доклиническим и клиническим исследованиям биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека [10].

В соответствии с современными подходами, для подтверждения биоподобности генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека необходимо доказать, что они по своему качеству, фармакокинетическому и фармакодинамическому профилям, безопасности и иммуногенности не отличаются от оригинального ЛП [7, 10]. При подтверждении сходных физико-химических и биологических свойств препаратов инсулина и аналогов инсулина человека может быть рекомендована программа проведения ограниченных доклинических и клинических исследований.

Все исследования должны носить сравнительный характер. Выбор ЛПС должен быть обоснован [10]. По общему правилу, таковым является ЛП, в отношении которого проведен полный комплекс доклинических (фармакодинамических (ФД), фармакокинетических (ФК), токсикологических) и клинических исследований.

При выборе ЛПС инсулина следует учитывать, что он может выпускаться на разных производственных площадках. В целях надлежащей экстраполяции доклинических и клинических данных, полученных в отношении ЛПС, на биоподобный препарат, сравнение рекомендуется проводить с ЛПС, произведенным на производственной площадке, с которой он поступает в гражданский оборот Российской Федерации. Использование другого ЛПС требует подробного научного обоснования и представления дополнительных документов и данных.

Лекарственная форма, дозировка и путь введения биоподобного препарата инсулина и аналога инсулина человека не должны отличаться от таковых ЛПС. Выбранный ЛПС необходимо использовать на протяжении всей программы разработки биоподобного препарата.

Процесс производства биоподобного препарата инсулина и аналога инсулина человека должен совпадать с процессом производства ЛПС в части используемых исходных материалов: проинсулина или отдельных А-

и В-цепей человеческого инсулина. Кроме того, в целях приближения к профилю производственных примесей ЛПС необходимо использовать ту же экспрессирующую конструкцию (например, *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*) [10].

При проведении клинических исследований с целью подтверждения биоаналогичности необходимо придерживаться поэтапного подхода, начиная их с ФК- и ФД-исследований (I этап) и далее — исследования безопасности и эффективности (II этап).

Подтверждение биоподобности препаратов инсулина в рамках I фазы клинического исследования

В соответствии с современными подходами, оценка ФК и ФД биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека проводится в рамках двойного слепого рандомизированного перекрестного эугликемического гиперинсулинемического клэмп-исследования [7, 10].

Разработанное для изучения инсулинорезистентности эугликемическое гиперинсулинемическое клэмп-исследование в настоящее время является лучшим из имеющихся методов изучения ФК и ФД инсулина [11, 12].

Цели и задачи исследования

Основная цель данного исследования заключается в оценке сходств и различий ФК- и ФД-профилей потенциального биоподобного препарата и ЛПС. Вторичной целью ФК- и ФД-исследований является изучение безопасности и переносимости исследуемого ЛП.

Задача исследования заключается в поддержании концентрации глюкозы в плазме крови в заданных пределах при введении препарата инсулина или аналога инсулина человека (его концентрация в исследовании превышает нормальную, поэтому исследование называется гиперинсулинемическим). Концентрацию глюкозы в плазме крови необходимо поддерживать в пределах нормальных значений, поэтому исследование называется эугликемическим. Чтобы концентрация глюкозы в плазме крови под воздействием препарата инсулина или аналога инсулина избыточно не снижалась, внутривенно (в/в) непрерывно необходимо вводить глюкозу (декстрозу). Таким образом, формируется «клэмп» (англ. clamp — зажим): постоянно всасывающийся и попадающий в системный кровоток препарат инсулина после его подкожного (п/к) введения снижает концентрацию глюкозы в крови, а скорость вводимой в/в глюкозы постоянно корректируется в зависимости от профиля действия инсулина [11, 13]. Измерения концентрации инсулина в плазме крови и скорости инфузии глюкозы (СИГ) позволяют установить профили «время — концентрация» и «время — эффект» соответственно. Таким образом, в рамках одного клэмп-исследования возможно установить соотношение между экспозицией (ФК) и гипогликемическим эффектом (ФД) препарата инсулина.

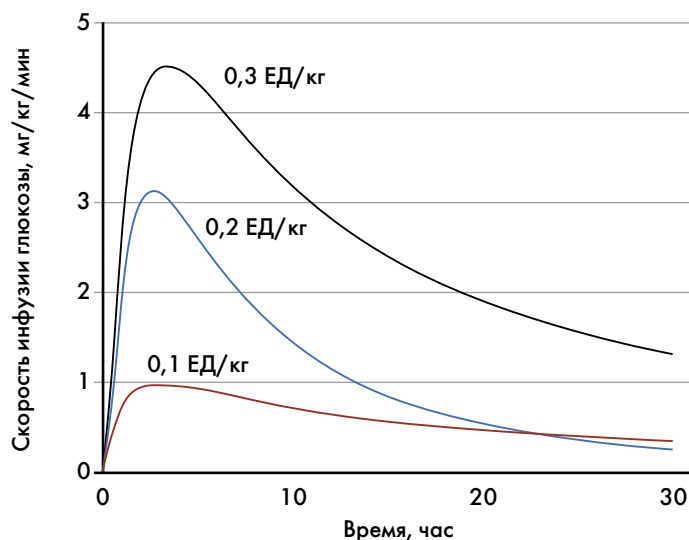


Рис. 1. Фармакодинамика инсулина-изофан, введенного п/к в различных дозах.

На рис. 1 показан пример фармакодинамики инсулина-изофан, введенного п/к в различных дозах во время клэмп-исследования.

Методы проведения клэмп-исследования

Существуют различные методы проведения клэмп-исследования и алгоритмы обратной связи для поддержания нужной концентрации глюкозы плазмы крови. Взятие крови для определения концентрации глюкозы и коррекция СИГ в ходе клэмп-исследования могут проводиться вручную или в ходе автоматизированной процедуры. Оба метода требуют большого опыта. Однако оба метода зарекомендовали себя как дающие сходные и воспроизводимые результаты при условии, что отсутствуют быстрые изменения концентрации глюкозы крови, которые могут остаться незамеченными на временной кривой при неадекватно продолжительных интервалах между ее измерениями в ходе ручного клэмп-исследования [10].

Обоснование дизайна исследования

Рекомендуемый двойной слепой дизайн, особенно при проведении исследования вручную, позволяет снизить возможную необъективность исследователя, проводящего ручную технику клэмп-исследования, а также возможную предвзятость к исследуемому лекарственному препарату (ИЛП) со стороны добровольца или пациента, участвующего в исследовании.

Рандомизация в соотношении 1:1 обеспечивает случайный характер распределения добровольцев в группы исследования так, чтобы половине участников сначала был введен один из сравниваемых препаратов инсулина, другой — второй препарат инсулина, что является более надежной статистической основой для снижения влияния фактора последовательности применения сравниваемых между собой препаратов. Перекрестный дизайн обеспечивает получение достоверных и достаточных данных для оценки сопоставимости полученных показателей ФК и ФД как в целой исследуемой популяции, так и у каждого участника исследования.

Независимо от используемого метода, в целях обеспечения сопоставимости результатов исследования, дизайн должен быть обоснованным и одинаковым в ходе клэмп-исследования.

Дизайн эугликемического гиперинсулинемического клэмп-исследования должен предусматривать период скрининга, 2 сравнительных перекрестных периода клэмп-исследования с периодом «отмывки» между ними и заключительный визит.

Период скрининга считается официальным началом клинического исследования с момента подписания информированного согласия участниками исследования. В течение скрининга необходимо проведение комплекса амбулаторного обследования для выявления критериев включения/невключения субъектов в исследование.

Требования к исследуемой популяции

Для лучшего выявления возможных различий между ИЛП и ЛПС при проведении гиперинсулинемического эугликемического клэмп-исследования исследуемая популяция должна быть однородной и чувствительной к инсулину. В исследование возможно включение как здоровых добровольцев, так и пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1).

В клэмп-исследование препаратов инсулина и аналогов инсулина человека короткого или средней продолжительности действия предпочтительнее включение здоровых добровольцев, что не только облегчает время набора, но и минимизирует влияние факторов сопутствующих заболеваний на показатели концентрации инсулина и глюкозы в плазме крови.

Помимо преимуществ более простого набора в исследование, у здоровых добровольцев обычно отмечается меньшая внутрииндивидуальная вариабельность по сравнению с пациентами с СД1, но у них есть и недостаток — присутствие эндогенного инсулина, который, за исключением некоторых аналогов инсулина человека, при помощи имеющихся методов анализа невозможно отличить от экзогенного инсулина.

Для сравнения препаратов инсулина и аналогов инсулина человека длительного действия более предпочтительной исследуемой популяцией являются пациенты с СД1. Чтобы убедиться в отсутствии соответствующей остаточной секреции эндогенного инсулина, у пациентов с СД1, включенных в клэмп-исследование, необходимо измерять концентрацию С-пептида в плазме крови. Чтобы достичь сопоставимых исходных условий в исследовании, необходимо установить стабильную и сравнимую исходную концентрацию глюкозы и инсулина в крови в течение определенного времени перед введением ЛП, что у пациентов с СД1 достигнуть сложнее, чем у здоровых добровольцев.

Поскольку отмечены этнические различия в показателях эндогенного инсулина (например, лица африканского, южно-азиатского или латиноамериканского происхождения имеют сниженный клиренс глюкозы), в исследование желательно включать лиц одной национальности. У лиц разных этнических групп допускается

прибегнуть к подавлению выработки эндогенного инсулина или сделать поправку измеренной концентрации инсулина на содержание эндогенного инсулина [10].

Чувствительность к инсулину у женщин может изменяться в течение менструального цикла [14]. В настоящее время не ясно, может ли это повлиять на результаты исследования, поэтому предпочтительнее включение в исследование только лиц мужского пола.

Курение негативно влияет на метаболический контроль в организме и увеличивает инсулинорезистентность [15], поэтому в исследуемую популяцию следует включать только некурящих.

Учитывая вышеуказанное, считается обоснованным включение в клэмп-исследование некурящих здоровых добровольцев мужского пола европеоидной расы в возрасте 18–50 лет с нормальной массой тела (ИМТ 18,5–27 кг/м²) и с нормальными показателями глюкозы плазмы натощак и после перорального глюкозотолерантного теста.

При соответствии критериям включения/невключения субъекты исследования включаются в клэмп-исследование.

Требования к условиям проведения клэмп-исследования

В течение периодов исследования проводится госпитализация субъектов исследования; проведение непосредственно клэмп-исследования после п/к введения ИЛП или ЛПС с отбором образцов крови в определенные временные точки; обследование в рамках изучения безопасности ИЛП; оценка нежелательных явлений (НЯ).

В целях снижения вариабельности результатов исследования, обусловленных условиями его проведения, они должны быть максимально стандартизованы [10]. Субъекты исследования должны пройти клэмп-исследование после ночного голодания (обычно 10–12 ч) и не принимать пищу в ходе всего исследования, чтобы избежать постороннего воздействия на результаты исследования. У пациентов с СД1 необходимо минимизировать эффект «переноса» после последней инъекции инсулина, проведенной до исследования. Необходимо стандартизировать факторы, влияющие на чувствительность к инсулину, такие как время суток; физическая активность; прием пищи/диета; отказ от употребления алкоголя, напитков с кофеином; курения или приема ЛП, кроме исследуемых ЛП; отсутствие сопутствующих заболеваний, в том числе инфекционных, или эмоционального стресса. Можно провести стандартизацию привычек в течение нескольких дней перед началом исследования. В месте проведения исследования субъектам исследования необходимо дать привыкнуть к обстановке, чтобы установить сопоставимую метаболическую активность; они должны оставаться в спокойной обстановке, избегать физической активности в ходе всего исследования, так как имеют значение даже незначительные отклонения от стандартных условий. Чем больше стандартизованы условия, тем меньше привнесенная вариабельность, что объективно скажется на интерпретации полученных результатов.

Подготовка к проведению непосредственно клэмп-исследования включает процедуры, направленные на достижение целевой эугликемии, при этом определение концентрации глюкозы и коррекцию СИГ следует проводить каждые 5 мин. Начальная СИГ обычно составляет 1 мг/кг/мин. Целевая концентрация глюкозы должна быть достигнута минимум за 1 ч до п/к введения ИЛП и поддерживаться на этом уровне в течение этого часа. Если за 1 ч до запланированного введения ИЛП инсулина целевая концентрация глюкозы в плазме крови не достигнута, ее необходимо достичь в течение следующего часа. В случае если это не удастся, субъект должен прекратить участие в исследовании.

Методы подавления эндогенного инсулина

У здоровых добровольцев в клэмп-исследовании выработка эндогенного инсулина может повлиять на ФК-и/или ФД-профили препарата инсулина. Для оценки прандиального инсулина предполагается, что его однократное введение существенно подавляет эндогенный инсулин в ходе всего клэмп-исследования. Обычно эндогенный инсулин можно в достаточной степени подавить при стабилизации концентрации глюкозы в крови ниже концентрации глюкозы у пациента натощак. В противном случае, вначале можно ввести в/в болюсно препарат инсулина короткого или ультракороткого действия, после чего начать в/в инфузию этого инсулина (0,10–0,15 мЕД/кг/мин). Однако при совместном введении с базальным инсулином обычно выявляется изменение его позднего глюकोдинамического профиля, и возможна переоценка эффекта исследуемых инсулинов, особенно для препаратов инсулина длительного действия.

Выбор пути введения и дозы препарата инсулина

Для снижения вариабельности место и техника введения препаратов инсулина должны быть стандартизованы. ИЛП и ЛПС инсулина вводятся п/к в область подкожной клетчатки передней брюшной стенки, так как из этой области скорость всасывания инсулина в кровь выше (что связано со степенью кровоснабжения подкожной жировой клетчатки живота).

Рекомендуются следующие дозы инсулина: для препаратов инсулина короткого и аналогов инсулина человека ультракороткого действия — 0,2–0,3 ЕД/кг массы тела; для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека средней продолжительности действия — 0,3–0,4 ЕД/кг массы тела; для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека длительного действия — 0,4–0,6 ЕД/кг массы тела. Дозы в верхнем диапазоне обычно дают более надежный ФД-ответ, снижая, таким образом, ФД-вариабельность.

Поддержание целевой концентрации глюкозы плазмы крови

Одновременно с п/к введением ИЛП инсулина возобновляется корректировка скорости управляемой инфузии глюкозы (которая не изменялась в течение 1 ч до введения ИЛП) для поддержания целевой концен-

трации глюкозы плазмы крови. Глюкоза вводится в виде 20% раствора, точность скорости введения обеспечивается с помощью волюметрического дозатора.

У здоровых добровольцев концентрация глюкозы плазмы крови обычно поддерживается на более низком показателе, чем значение, полученное у них же натощак (например, ниже на 0,3 ммоль/л (5 мг/дл) или на 10%, или в пределах 4,4–5,6 ммоль/л (80–100 мг/дл)). У пациентов с СД1 концентрация глюкозы в крови обычно поддерживается на значении 5,6 ммоль/л (100 мг/дл). Необходимо заранее установить допустимые отклонения концентрации глюкозы плазмы крови от этих показателей в ходе клэмп-исследования. Следует избегать достижения концентрации глюкозы ниже 3,3 ммоль/л (60 мг/дл), поскольку при таком значении происходит стимуляция выработки контррегуляторных гормонов (адреналина, глюкагона, кортизола, гормона роста), что повышает концентрацию глюкозы в крови, ведет к быстрому и выраженному ухудшению чувствительности к инсулину и влияет на оцениваемый профиль «время – эффект» ИЛП [7].

При выходе концентрации глюкозы плазмы крови за пределы допустимых значений должны предприниматься меры по скорейшему возвращению ее к целевому показателю. После подкожного введения ИЛП инсулина короткого или ультракороткого действия контроль концентрации глюкозы плазмы крови и коррекция СИГ должны проводиться каждые 5 мин. После подкожного введения ИЛП инсулина средней продолжительности или длительного действия в течение первых 3 ч контроль концентрации глюкозы плазмы крови и коррекция СИГ должны проводиться каждые 5 мин, с 3 ч до 10 ч – каждые 10 мин, с 10 ч и до окончания клэмпа – каждые 15 мин.

Параллельно с измерением концентрации инсулина необходимо измерять концентрацию С-пептида в плазме крови, чтобы оценить степень и стабильность подавления выработки эндогенного инсулина в ходе исследования. При отсутствии подавления инсулина предлагаются методы коррекции содержания С-пептида, но пока неясно, улучшают ли они чувствительность клэмп-исследования и снижают ли вариабельность измерений, полученных в ходе его проведения [10].

Обоснование длительности клэмп-исследования

При обосновании продолжительности клэмп-исследования необходимо учитывать длительность действия ИЛП инсулина и зависимость ее от дозы. Длительность действия инсулина в эугликемическом клэмп-исследовании может быть определена как время, прошедшее от введения препарата инсулина до момента возвращения СИГ к исходному или к заранее установленному значению (например, 0,5 мг/кг/мин), либо у пациентов с СД1 – до момента, когда значения концентрации глюкозы в крови превышают заранее установленный порог, например, 8,3 ммоль/л (150 мг/дл). Обычно продолжительность клэмп-исследования для препаратов аналогов инсулина человека ультракороткого дей-

ствия составляет от 8 до 10 ч, для препаратов инсулина короткого действия – 10–12 ч, для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека средней продолжительности и длительного действия – не менее 24 ч [7].

В ходе выведения из клэмп-исследования после прекращения отбора образцов крови для определения концентрации инсулина необходимо корректировать СИГ до момента достижения и поддержания в течение 30 мин концентрации глюкозы плазмы >6,1 ммоль/л, после чего инфузия глюкозы прекращается. Контроль глюкозы плазмы крови необходимо проводить через 15 и 30 мин, а наблюдение – в течение 2 ч после прекращения инфузии глюкозы. Во время выведения из клэмп-исследования, а также по его окончании субъект должен получить питание.

С целью избежания эффекта переноса при определении длительности периода «отмывки» между периодами исследования, должна учитываться длительность действия инсулина (функциональный след), а не только физическое присутствие инсулина в крови. В течение этого периода субъект должен соблюдать все ограничения, предусмотренные протоколом клинического исследования. В период «отмывки» необходимо продолжать регистрацию и оценку НЯ.

Изучение ФК-показателей препаратов инсулина в рамках клэмп-исследования

При изучении ФК-показателей препаратов инсулина и аналогов инсулина человека в рамках клэмп-исследования следует учесть рекомендации, изложенные в руководстве ЕМА по изучению ФК терапевтических белков [16].

Отбор образцов крови для определения концентрации инсулина в плазме крови для ФК-анализа проводится в определенные обоснованно выбранные временные точки. Исследование концентрации инсулина в плазме крови необходимо проводить с использованием современных валидированных методов анализа с высокой специфичностью и чувствительностью.

Необходимо уделить большое внимание биоаналитической методологии, в том числе учесть эндогенную концентрацию инсулина, например, путем ее определения за 10–60 мин до введения. Необходимо дать однозначную характеристику фармацевтической субстанции инсулина, поскольку она представляет собой смесь близкородственных молекул, а также подтвердить, что использованные биоаналитические методы способны обнаруживать аналиты, соответствующие определению конкретной фармацевтической субстанции, представленной разработчиком [17].

Существуют различия между конечными ФК-показателями для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека в зависимости от длительности их действия [7].

Основные конечные ФК-показатели для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека короткого и ультракороткого действия: AUC_{0-t} – площадь под ФК-кривой «концентрация – время» с момента введения до окончания клэмп-исследования в момент t ;

$C_{\max}$ — максимальная концентрация инсулина в плазме крови.

Дополнительные конечные ФК показатели для препаратов инсулина короткого и аналогов инсулина ультракороткого действия: $AUC_{0-\infty}$ — площадь под ФК-кривой «концентрация — время», экстраполированная на бесконечное время; частичные AUC (имеющие значение для соответствующего инсулина); $T_{\max}$ — время достижения максимальной концентрации инсулина в плазме крови; $T_{1/2}$ — период полувыведения инсулина из плазмы крови.

Основные конечные ФК-показатели для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека средней продолжительности действия: AUC_{0-t} — площадь под ФК-кривой «концентрация — время» для времени интервала дозирования; $C_{\max}$.

Дополнительные конечные ФК-показатели для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека средней продолжительности: AUC_{0-t} ; $AUC_{0-\infty}$; частичные AUC; $T_{\max}$; $T_{1/2}$.

Препараты инсулина и аналоги инсулина человека длительного действия обычно характеризуются «плоским» ФК-профилем, и определение $C_{\max}$ и $T_{\max}$ может оказаться невозможным и клинически бессмысленным [18]. При исследовании ФК препаратов инсулина и аналогов инсулина человека длительного действия основным конечным показателем является AUC_{0-t} .

Дополнительные конечные показатели для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека длительного действия: частичные AUC, например, AUC в ходе первой половины интервала дозирования ($AUC_{0-t50\%}$) и AUC в ходе второй половины интервала дозирования ($AUC_{t50\%-t}$). По возможности, необходимо определять $T_{1/2}$.

При проведении статистического анализа полученных результатов для основных конечных показателей AUC и $C_{\max}$, если применимо, необходимо определять 90%-ный доверительный интервал отношения средних геометрических исследуемых значений. При отсутствии иных научно обоснованных границ, для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека рекомендуется использовать общепринятый диапазон приемлемых значений для установления биоаналогичности, равный 80–125% [19]. Предполагается, что колебания в пределах этого диапазона не ведут к клинически значимым различиям в эффекте биоподобного препарата по сравнению с ЛПС.

Если предполагается высокая вариабельность полученных результатов, необходимо рассмотреть возможность проведения исследования с повторным дизайном (например, исследование с тремя или четырьмя периодами с повторением введения ИЛП и ЛПС (2 и 3 перекреста соответственно)) и обоснованное расширение границ признания эквивалентности для того, чтобы избежать необходимости увеличения размера выборки. В исследовании с тремя периодами требуется большее число участников, чем в исследовании с четырьмя периодами [20].

Изучение ФД-показателей препаратов инсулина в рамках клэмп-исследования

ФД-профиль «время — эффект» препаратов инсулина и аналогов инсулина человека описывает изменение СИГ во времени.

Существуют различия между конечными ФД-показателями для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека в зависимости от длительности их действия [7].

Основные конечные ФД-показатели для препаратов инсулина короткого и аналогов инсулина человека ультракороткого действия — площадь под кривой СИГ с момента введения до окончания клэмп-исследования в момент t ($СИГ-AUC_{0-t}$) и максимальная СИГ ($СИГ_{\max}$).

Основные конечные ФД-показатели для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека средней продолжительности действия — площадь под кривой СИГ для времени интервала дозирования ($СИГ-AUC_{0-t}$) и $СИГ_{\max}$.

Основным конечным ФД-показателем для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека длительного действия является $СИГ-AUC_{0-t}$.

Другими значимыми конечными ФД-показателями являются: время начала действия (время после введения препарата инсулина, когда требуется первое увеличение СИГ для поддержания эугликемии, или время после введения препарата инсулина, когда СИГ увеличивается по сравнению с исходным значением и превышает заранее установленную границу, например, повышение СИГ на 10 или 20% по сравнению с исходным значением) и время достижения максимальной СИГ ($T_{СИГ\max}$) для препаратов инсулина и аналогов инсулина человека короткого, ультракороткого и средней продолжительности действия и СИГ-AUC за определенные временные промежутки, имеющие значение для соответствующего препарата инсулина.

Если в доклинических исследованиях *in vitro* с применением передовых высокочувствительных методов подтверждена сопоставимость физико-химических и биологических свойств ИЛП и ЛПС, все ФД-параметры, связанные с СИГ, допускается отнести к вспомогательным конечным показателям. Тем не менее, ФК- и ФД-профили «время — концентрация» и «время — эффект» следует исследовать одновременно (в рамках одного и того же клэмп-исследования).

При проведении статистического анализа полученных результатов для всех ФД-параметров требуется расчет 95%-го доверительного интервала отношения исследуемых значений. Для основных ФД-параметров на этапе планирования исследования необходимо определить и обосновать границы признания эквивалентности (биоподобности). В исследованиях с повторным дизайном необходимо документировать внутрииндивидуальную вариабельность для ФД конечных точек.

Полученные ФК- и ФД-профили инсулина экстраполируются на в/в путь введения, если он предусмотрен для данного препарата инсулина или аналога инсулина человека, проведения дополнительных отдельных фармакологических исследований при его в/в введении не требуется [7].

Требования к качеству клэмп-исследования

Контроль концентрации глюкозы в плазме крови в ходе клэмп-исследования является сложной задачей. В зависимости от интервалов измерения и алгоритма обратной связи, а также по причине закономерной задержки при получении измерения из-за временного промежутка между проведением анализа и изменением СИГ, а также последующей задержки в изменении концентрации глюкозы в крови в ответ на изменения СИГ, значения концентрации глюкозы в крови обычно не соответствуют точному целевому значению, но колеблются вокруг него. По этой причине возникают изменения на кривой СИГ («шум»).

Разработчик должен представить оценку качества проведения клэмп-исследования, например, рассчитав средние значения, среднее квадратичное отклонение и коэффициент изменчивости концентрации глюкозы в плазме крови. При возможности, результаты следует анализировать и сравнивать со значениями, указанными в научной литературе.

«Шум» при измерении СИГ при расчете $СИГ_{max}$ и связанных со временем параметров (таких как $T_{СИГ_{max}}$) может быть снижен путем применения математической модели. Алгоритм корректировки СИГ должен быть определен заранее, необходимо подтвердить пригодность применяемого метода коррекции.

СИГ-AUC обычно не подвержена сильному влиянию колебаний концентрации глюкозы в плазме крови и может быть рассчитана по данным СИГ без проведения коррекции.

Требования к подтверждению биоподобности различных препаратов инсулина, содержащих одно и то же действующее вещество

Если производитель разрабатывает различные биоподобные препараты инсулина или аналоги инсулина человека, например, короткого действия, средней продолжительности действия и двухфазные препараты, содержащие одно и то же действующее вещество, нет необходимости в получении ФД-данных для всех этих препаратов. Допустима следующая программа для подтверждения сходной эффективности указанных препаратов инсулина и их соответствующих ЛПС [10]:

- подтверждение сходных ФК- и ФД-профилей в ходе клэмп-исследования для препарата инсулина короткого или аналогов инсулина человека ультракороткого действия и их ЛПС;
- подтверждение сходных ФК-профилей для препаратов средней продолжительности действия или двухфазных препаратов инсулина и их ЛПС в ходе ФК исследования.

Необходимо представить любые ФД-данные, полученные в ходе ФК-исследования.

Оценка безопасности и переносимости в рамках клэмп-исследования

Вторичной целью ФК- и ФД-исследований является изучение безопасности и переносимости ЛП [10].

Безопасность ЛП заключается в медицинском риске для субъектов исследования, оцениваемом по результатам лабораторных исследований (включая клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи), показателям жизнедеятельности, клиническим нежелательным реакциям (заболеваниям, признакам и симптомам) и другим исследованиям безопасности (например, ЭКГ). Рекомендуется отдельно выделить оценку и характеристику реакций в месте введения ЛП.

Переносимость ЛП означает способность субъекта исследования переносить явно наблюдающиеся нежелательные реакции.

Оценка безопасности и переносимости проводится общепринятыми методами.

Необходимо постоянное медицинское наблюдение за субъектами исследования на протяжении всего клэмп-исследования, включая контроль основных жизненных показателей (артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений, температуры тела); регистрацию НЯ.

В течение процедуры проведения клэмп-исследования необходимо оценивать местную переносимость ИЛП и ЛПС инсулина.

Регулярно во время проведения клэмп-исследования необходимо контролировать концентрацию калия плазмы крови посредством забора образцов крови и их анализа в палате прямым потенциометрическим методом. Кратность проведения исследования определяется клинической ситуацией.

Учитывая ожидаемые НЯ (например, гипогликемию), рекомендуется предусмотреть применение симптоматической терапии.

Заключение

Таким образом, изучение сопоставимости ФК- и ФД-профилей в рамках двойного слепого рандомизированного перекрестного эугликемического гиперинсулинемического клэмп-исследования является неотъемлемым этапом подтверждения биоаналогичности, т.е. доказательства того, что клинически значимые различия между потенциальным биоподобным ЛП инсулина и соответствующим ему ЛПС отсутствуют.

Дополнительная информация

Информация о финансировании

Обзорно-аналитическая работа проведена в рамках реализации научной программы, поддержанной грантом Российского научного фонда (проект №14-25-00181).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанного с рукописью.

Список литературы | References

1. Дедов И.И. Инновационные технологии в лечении и профилактике сахарного диабета и его осложнений // Сахарный диабет. — 2013. — Т. 16. — №3 — С. 4-10. [Dedov II. Novel technologies for the treatment and prevention of diabetes mellitus and its complications. *Diabetes mellitus*. 2013;16(3):4-10. (in Russ)]. doi: 10.14341/2072-0351-811
2. The Commission of the European Communities (2003) Commission Directive 2003/63/EC of 25 June 2003 amending Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use. In Official Journal of the European Union. (L159):46-94. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:159:0046:0094:EN:PDF>
3. Шестакова М.В., Викулова О.К. Биосимиляры: презумпция виновности? // Сахарный диабет. — 2011. — Т. 14. — №4 — С. 91-99. [Shestakova MV, Vikulova OK. Biosimilars: presumption of guilt. *Diabetes mellitus*. 2011;14(4):91-99. (in Russ)]. doi: 10.14341/2072-0351-5825
4. Миронов А.Н., Горячев Д.В., Проскурина И.А., Меркулов В.А. Экспертные подходы к оценке отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения биоаналогичных препаратов генно-инженерного человеческого инсулина и его аналогов // Ведомости НЦЭСМП. — 2014. — №3 — С. 3-8. [Mironov AN, Goryachev DV, Proskurina IA, Merkulov VA. Expert approaches to assessing benefit-risk ratio of biosimilar genetically engineered human insulin preparations and its analogues. *Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin*. 2014;(3):3-8. (in Russ)]
5. Annex guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues-guidance on biosimilar medicinal products containing recombinant human insulin (EMA/CHMP/32775/2005). Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003957.pdf
6. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. European Medicines Agency. 2006. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003920.pdf
7. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues (EMA/CHMP/BWP/32775/2005_Rev. 1). Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/03/WC500184161.pdf
8. Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года (утверждена приказом Минпромторга России от 23 октября 2009). [Strategiya razvitiya farmatsevticheskoy promyshlennosti Rossiyskoy Federatsii na period do 2020 goda (utverzhdena prikazom Minpromtorga Rossii of 23 October 2009). (in Russ)]. Available on URL: <http://pharma2020.ru>
9. Федеральный закон Российской Федерации от 22 декабря 2014 г. N 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств» [Принят Государственной Думой 9 декабря 2014 года. Одобрен Советом Федерации 17 декабря 2014 года. Вступает в силу: 1 июля 2015 г.]. // Российская газета. Федеральный выпуск. 26 декабря 2010: {6568}. [Federal'nyy zakon Rossiyskoy Federatsii of 22 december 2014. N 429-FZ «O vnesenii izmeneniy v Federal'nyy zakon «Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv» [Prinyat Gosudarstvennoy Dumoy 9 december 2014. Odobren Sovetom Federatsii 17 december 2014. Vstupayet v silu: 1 July 2015]. *Rossiyskaya gazeta*. Federal'nyy vypusk. 2010 December 26:{6568}. (in Russ)].
10. Руководство по экспертизе лекарственных средств. (Том IV) — М.: ПОЛИГРАФ-ПЛУС; 2014. [Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv. (Vol IV). Moscow: POLIGRAF-PLUS; 2014. (in Russ)].
11. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979;237(3):E214-223.
12. Майоров А.Ю., Урбанова К.А., Галстян Г.Р. Методы количественной оценки инсулинорезистентности // Ожирение и метаболизм. — 2009. — Т. 6. — №2 — С. 19-23. [Mayorov AY, Urbanova KA, Galstyan GR. Methods for quantitative assessment of insulin resistance. *Obesity and metabolism*. 2009;6(2):19-23. (in Russ)]. doi: 10.14341/2071-8713-5313
13. Ayala JE, Bracy DP, Malabanan C, et al. Hyperinsulinemic-euglycemic clamps in conscious, unrestrained mice. *J Vis Exp*. 2011(57). pii: 3188. doi: 10.3791/3188
14. Yeung EH, Zhang C, Mumford SL, et al. Longitudinal study of insulin resistance and sex hormones over the menstrual cycle: the BioCycle Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(12):5435-5442. doi: 10.1210/jc.2010-0702
15. Thatcher MO, Tippetts TS, Nelson MB, et al. Ceramides mediate cigarette smoke-induced metabolic disruption in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;307(10):E919-927. doi: 10.1152/ajpendo.00258.2014
16. European Medicines Agency. Clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003029.pdf
17. The United States Food and Drug Administration. Clinical Pharmacology Data to Support a Demonstration of Biosimilarity to a Reference Product [Draft Guidance for Industry]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM397017.pdf>
18. Swinnen SG, Holleman F, DeVries JH. The interpretation of glucose clamp studies of long-acting insulin analogues: from physiology to marketing and back. *Diabetologia*. 2008;51(10):1790-1795. doi: 10.1007/s00125-008-1098-5
19. European Medicines Agency. Investigation of bioequivalence. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf
20. Chow SC, Liu J. *Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies*. 3rd edition. Boca Raton: Chapman & Hall Crc Press; 2009.

Информация об авторах [Authors Info]

Проскурина Ирина Анатольевна, к.м.н. [Irina A. Proskurina, MD, PhD]; адрес: 127051, Россия, Москва, Петровский бульвар, д. 8, с. 1 [address: 8-1 Petrovsky avenue, 127051 Moscow, Russia]; eLibrary SPIN: 6302-2090; ORCID: 0000-0003-0934-5067; E-mail: proskurina@expmed.ru

Майоров Александр Юрьевич, д.м.н. [Aleksandr Y. Mayorov, MD, PhD]; eLibrary SPIN: 4275-7779; ORCID: 0000-0001-5825-3287. Горячев Дмитрий Владимирович, д.м.н. [Dmitriy V. Goryachev, MD, PhD]; eLibrary SPIN: 9689-2901; ORCID: 0000-0001-8583-2372. Бунятян Наталья Дмитриевна, д.фарм.н. [Natalya D. Bunyatyan, PhD]; eLibrary SPIN: 9853-1232; ORCID: 0000-0003-0936-5551.

Цитировать:

Проскурина И.А., Майоров А.Ю., Горячев Д.В., Бунятян Н.Д. Современные подходы к оценке фармакокинетики и фармакодинамики биоподобных генно-инженерных препаратов человеческого инсулина и аналогов инсулина человека в рамках I фазы клинического исследования // Сахарный диабет. — 2016. — Т. 19. — №3. — С. 251-259. doi: 10.14341/DM2003446-49

To cite this article:

Proskurina IA, Mayorov AY, Goryachev DV, Bunyatyan ND. Modern approach to the evaluation of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of biosimilar recombinant human insulin and insulin analogues in I phase clinical study. *Diabetes mellitus*. 2016;19(3):251-259. doi: 10.14341/DM2003446-49