

Основные положения статистической оценки биоэквивалентности лекарственных средств

1. Исходные предпосылки

Исследования биоэквивалентности как вид клинических исследований проводятся в Российской Федерации в соответствии с нормами, определенными в [1-3], и направлены на получение подтверждения о качестве воспроизведенных (генерических) лекарственных препаратов (ЛП) в сравнении с соответствующими оригинальными ЛП, зарегистрированными в РФ.

Два ЛП считаются биоэквивалентными (или фармакокинетически эквивалентными), если они обеспечивают одинаковую биодоступность лекарственного вещества. При этом содержание лекарственного вещества в исследуемом ЛП и препарате сравнения не должно отличаться более чем на 5% [2]. Биодоступность - относительное количество действующего вещества, которое достигает системного кровотока (степень всасывания), и скорость, с которой этот процесс происходит (скорость всасывания). Для оценки биодоступности необходимо использовать несколько показателей.

2. Основные показатели для оценки биодоступности и биоэквивалентности

Набор фармакокинетических показателей (параметров сравнения), используемых для оценки биодоступности и биоэквивалентности, зависит от схемы введения ЛП (однократное или многократное введение), его действия (обычное или пролонгированного действия) и основаны на результатах лабораторной оценки изменения со временем концентрации в крови действующего вещества. На рис. 1 приведен пример кривых «концентрация – время» для различных схем введения ЛП.

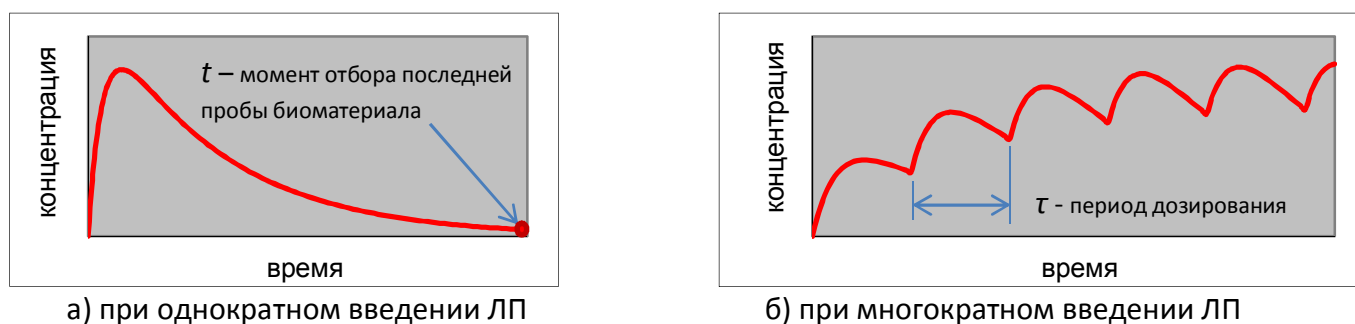
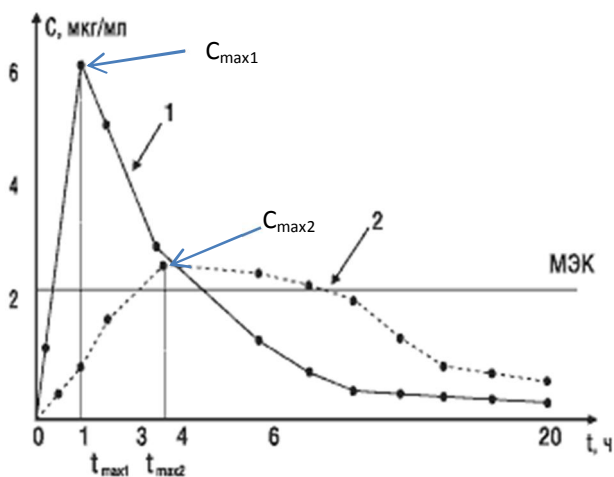


Рис. 1.

2.1. Однократное введение лекарственных препаратов

На рис.2 приведен пример сравнительного графика фармакокинетических кривых сравниваемых препаратов и некоторые параметры:



МЭК – минимальная эффективная концентрация действующего вещества,
 Кривая 1 – референтный препарат (R),
 кривая 2 – тестируемый препарат (Т),
 C_{max1} – максимальная концентрация для референтного препарата,
 C_{max2} – максимальная концентрация для тестируемого препарата,
 t_{max1} , t_{max2} – время достижения максимальных концентраций сравниваемых препаратов в крови
 Рис. 2

Показатели сравнения ЛП, используемые при однократном введении, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Лекарственная форма	Обозначение показателя	Наименование показателя	Допущение о статистическом распределении
Для всех лекарственных форм	AUC_t	Площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до момента (t) отбора последней пробы биоматериала	Лог-нормальное распределение
	AUC_∞	Площадь под кривой «концентрация действующего вещества – время» в интервале времени от 0 до ∞	
	C_{max}	Максимальная концентрация действующего вещества	
	t_{max}	Время достижения максимальной концентрации действующего вещества	Не имеет ни нормального, ни лог-нормального распределения
Для обычных лекарственных форм	C_{max} / AUC_t	Характеристики скорости всасывания	Лог-нормальное распределение
	C_{max} / AUC_∞		
Для форм пролонгированного действия	$T > 75\% C_{max}$	Продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного средства превышает 75% от C_{max}	Нормальное распределение

Оценка значений этих показателей осуществляется как для тестируемого, так и для референтного препарата применительно к каждому добровольцу, участвующему в исследовании, на основе анализа индивидуальных фармакокинетических профилей (кривых «концентрация – время»). Площадь под кривой «концентрация-время» AUC_t рассчитывают при помощи метода (формулы) трапеций. Значения параметров C_{max} и t_{max} оценивают немодельным способом как наибольшее из измеренных значений концентрации действующего вещества у конкретного добровольца и соответствующее время наблюдаемого максимума. Величина AUC_{∞} рассчитывается на основе измеренных значений концентраций и оцененной скорости выведения действующего вещества по формуле, приведенной в [2]. В качестве характеристики скорости выведения используется константа элиминации или период полувыведения, значения которых оцениваются с помощью нелинейного регрессионного анализа [7,8] применительно к выбранной фармакокинетической модели выведения действующего вещества¹. Поиск параметров выбранной модели выведения осуществляется применительно к каждому полученному фармакокинетическому профилю по алгоритму², аналогичному тому, который реализован в американской компьютерной программе [8]. Дополнительно с помощью модели выведения оценивается такой фармакокинетический показатель как среднее время удерживания действующего вещества в крови (MRT). Индивидуальные фармакокинетические профили и рассчитанные индивидуальные значения параметров фармакокинетики включаются в отчет об исследовании (в виде графиков и таблиц). Как для тестируемого, так и для референтного препарата наряду с показателями, перечисленными выше, в процессе исследования оцениваются:

- усредненные фармакокинетические профили³;
- средние значения параметров фармакокинетики⁴ и величины стандартных отклонений;
- средние геометрические значения лог-нормально распределенных параметров фармакокинетики, соответствующие интервальные оценки.

2.2. Многократное введение лекарственных препаратов

В стационарных условиях (ss), реализующихся при повторяющемся введении лекарственного препарата в одинаковой дозе с одним и тем же интервалом дозирования (τ), индивидуальные фармакокинетические профили характеризуются следующими параметрами сравнения:

- значением площади под кривой «концентрация – время» в пределах интервала дозирования после установления стационарного распределения препарата ($AUC_{\tau,ss}$);
- максимальной концентрацией (C_{max});
- отношением $C_{max} / AUC_{\tau,ss}$;
- значением минимальной концентрации (C_{min});
- средней стационарной концентрацией ($C_{ss} = AUC_{\tau,ss} / \tau$);

¹ В CRO «IN VIVO» для этого может применяться однокамерная либо двухкамерная модели выведения [4-6,8], основанные на допущении, что распределение и элиминация являются экспоненциальными процессами первого порядка (то есть их скорость прямо пропорциональна количеству препарата в каждой камере).

² Решением некоторой системы уравнений методом наименьших квадратов обеспечивается наилучшее приближение выбранной модели реальному фармакокинетическому профилю

³ Усреднение проводится внутри группы добровольцев, получивших один и тот же ЛП

⁴ Для имеющих нормальное распределение (константы элиминации, периода полувыведения, длительностей $T > 75\%$ C_{max} и MRT) – средние арифметические, для времени t_{max} , не имеющего нормального распределения - медиана

- разностью между значениями C_{\max} и C_{\min} , отнесенной к средней стационарной концентрации C_{ss} .

Для форм пролонгированного действия рассчитываются также:

- продолжительность периода времени, в течение которого концентрация лекарственного средства превышает среднее стационарное значение C_{ss} ;
- продолжительностью $T > 75\% C_{\max}$.

3. Критерии биоэквивалентности

В соответствии с принятыми в РФ нормами [2], препараты считаются биоэквивалентными, если границы оцененных доверительных интервалов для отношений средних значений показателей исследуемого (Т) и референтного (R) препарата не выходят из заданных пределов (см. табл. 2).

Таблица 2

Схема введения ЛП	Отношение средних значений показателей сравнения ⁵ - μ_T / μ_R	Пределы ($Q_1 - Q_2$)
Однократное введение	$f' = (AUC_t)_T / (AUC_t)_R$ (*)	80 – 125%
	$f = (AUC_{\infty})_T / (AUC_{\infty})_R$ (*)	
	$f'' = (C_{\max})_T / (C_{\max})_R$	75 – 133%
	$(C_{\max}/AUC_t)_T / (C_{\max}/AUC_t)_R$ (**)	
	$(C_{\max}/AUC_{\infty})_T / (C_{\max}/AUC_{\infty})_R$ (**)	
Множественное введение	$(AUC_{t,ss})_T / (AUC_{t,ss})_R$	80 – 125%
	$(C_{\max})_T / (C_{\max})_R$	75 – 133%
	$(C_{\max}/AUC_{t,ss})_T / (C_{\max}/AUC_{t,ss})_R$	

*) показатели f' и f характеризуют относительную степень всасывания,

**) отношения для показателя C_{\max}/AUC характеризуют относительную скорость всасывания.

В случае если хотя бы один из критериев табл. 2 не выполняется, вывод о биоэквивалентности ЛП не делается.

Параметрические двусторонние 90%-ные доверительные интервалы⁶ для отношений соответствующих средних значений показателей исследуемого и референтного препарата (μ_T/μ_R) рассчитываются на основе данных, полученных с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) [7,9-12].

⁵ (...)Т и (...)R обозначают значения показателя, указанного в скобках, применительно к исследуемому препарату и референтному препарату соответственно

⁶ При парном одностороннем тесте значимости [9]

В интересах применения дисперсионного анализа основные фармакокинетические показатели (AUC_t , AUC_∞ , C_{max} , C_{max}/AUC_t , C_{max}/AUC_∞) логарифмируются⁷.

Рекомендованная в [2] и используемая в CRO «IN VIVO» статистическая модель дисперсионного анализа учитывает следующие факторы, вносящие вклад в наблюдаемую вариацию данных:

- различие между препаратами (Т и R);
- различие между испытуемыми добровольцами (межиндивидуальные различия);
- последовательность приема препаратов (схема RT или TR);
- периоды исследования.

Дисперсионный анализ применяется для проверки гипотез о статистической значимости вклада каждого фактора в наблюдаемую вариабельность данных.

Полученная с помощью дисперсионного анализа оценка остаточной вариации используется при расчете доверительных интервалов для отношений средних значений соответствующего параметра (μ_T/μ_R). Значения полученных коэффициентов вариации, в том числе остаточной вариации, в виде таблицы включаются в отчет об исследовании.

Формы графиков и таблиц результатов, которые могут быть включены в отчет CRO «IN VIVO», в качестве примера представлены в приложении.

4. Расчет требуемого объема выборки и апостериорная оценка мощности тестов

В соответствии с нормами, приведенными в [2], мощность статистического теста для проверки биоэквивалентности должна быть на уровне не меньше 80% для выявления 20% -ных различий между значениями показателя сравнения.

Требуемый объем выборки оценивается на основе априорных данных о вариабельности показателей сравнения (AUC_t , AUC_∞ , C_{max} , C_{max}/AUC_t , C_{max}/AUC_∞) с использованием формул, представленных в [2]. При этом минимальное количество испытуемых установлено в количестве 18 человек.

После того как в результате клинических испытаний получены индивидуальные фармакокинетические профили и рассчитаны необходимые показатели сравнения, оценивается мощность каждого статистического теста биоэквивалентности (проверка критериев, указанных в табл. 2). Для этого применяются соответствующие формулы (см. [2]), основанные на T-распределении Стьюдента, в которых учитывается количество испытуемых добровольцев, уровень значимости⁸, коэффициент вариации (CV) параметра сравнения и допустимая величина различий средних значений параметра сравнения ($\Omega=20\%$).

Если при проведении статистического сравнения мощность теста окажется ниже 80%, то в тех случаях, когда сравниваемые препараты оказались небиоэквивалентными, для принятия обоснованного заключения о небиоэквивалентности необходимо будет включить в исследование большее число испытуемых. При этом расчет количества дополнительных испытуемых CRO «IN VIVO» будет проводить уже на основе данных, полученных в этих (еще не завершенных) клинических исследованиях.

⁷ Значения логарифма того или иного показателя рассматриваются как экспериментальные данные, являющиеся реализацией случайной величины с нормальным законом распределения. Дисперсии анализируемого признака в группах считаются равными

⁸ Уровень значимости для одностороннего теста - $\alpha=5\%$

Для статистической оценки биоэквивалентности компания «IN VIVO» привлекает специалистов, которые используют пакет прикладных программ STATISTICA 6 и средства Visual Basic for Application (VBA) MS Office 2010.

Список использованной литературы

1. Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ 52379-2005. Надлежащая клиническая практика (утв. Приказом Ростехрегулирования от 27.09.2005 № 232-ст).
2. Оценка биоэквивалентности лекарственных средств: Методические указания. Министерство здравоохранения и социального развития РФ, Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития, ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения». - М., 2008. – 33 с.
3. Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».
4. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств. М.: Литтерра, 2005. – 290 с.
5. Клиническая фармакокинетика. Теоретические, прикладные и аналитические аспекты: руководство / Под ред. В.Г.Кукеса. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 432с.
6. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. – М.: Изд-во ВПК, 2007. – 320 с.
7. Справочник по прикладной статистике. В 2-х т. Т.1: Пер. с англ./ Под ред. Э.Ллойда, У.Лидермана, Ю.Н. Тюрина. – М.: Финансы и статистика, 1989. – 510 с.
8. PKAnalyst® for Windows. - Micromath®, Saint Louis, Missouri, USA (<http://www.micromath.com/products.php?p=pkanalyst&m=overview>)
9. Donald J. Schuirmann. A comparison of two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the bioequivalence of average bioavailability. Journal of Phamacokinetics and Biopharmaceutics. Vol 15, №6, 1987:657–680.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
11. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – 2-е изд. - К.: МОРИОН, 2001. – 408 с.
12. Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика: Учебное пособие. – Спб.: ФОЛИАНТ, 2003. – 432 с.