

О ВЛИЯНИИ ОШИБОК РЕГИСТРАЦИИ ВРЕМЕНИ ЗАБОРА ПРОБ КРОВИ У ДОБРОВОЛЬЦЕВ НА ОЦЕНКУ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

профессор Васильев С.В. (CRO «IN VIVO»)

(текст доклада с эскизами слайдов¹)

Уважаемые присутствующие!

В соответствии с принятыми нормами оценка биоэквивалентности лекарственных препаратов основана на том, что с помощью статистических методов обрабатываются результаты определения концентрации действующего вещества в крови добровольцев.

Моменты времени, в которые должны быть взяты пробы крови, определяются протоколом клинического исследования.

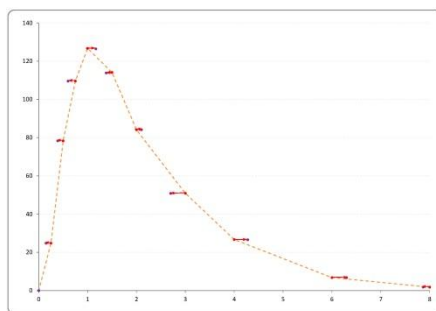
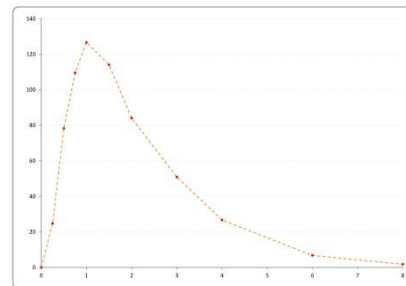
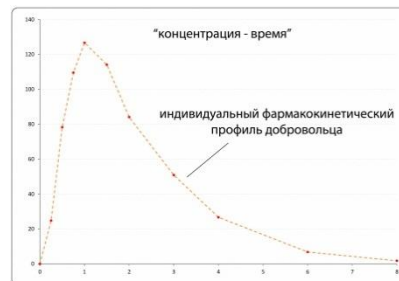
Однако точность, с которой медперсонал должен регистрировать время взятия пробы крови у добровольца, в настоящее время не регламентирована.

Единственно, существуют требования следующего характера:

Во-первых, это - общее требование о «соответствии времени отбора проб крови программе исследования» без какой-либо конкретизации.

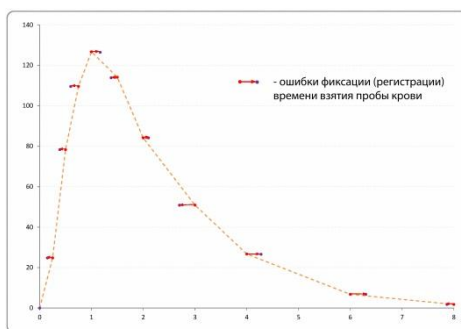
А во-вторых, требование о наличии на пробирке маркировки с указанием шифра испытуемого, названия препарата и номера пробы (обратите внимание – не времени!).

В силу различных причин, в том числе непредвиденных, реальное время взятия крови может не совпадать с плановым.



Но именно с плановым временем экспериментальные данные в дальнейшем поступают в статистическую обработку.

¹ Для доклада на семинаре в 1 МГМУ им. И.М.Сеченова

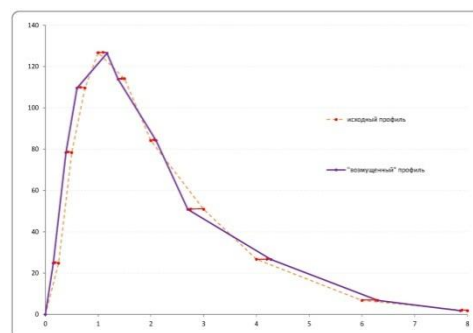


Поэтому наблюдаемые (оцененные) индивидуальные фармакокинетические профили добровольцев искажаются.

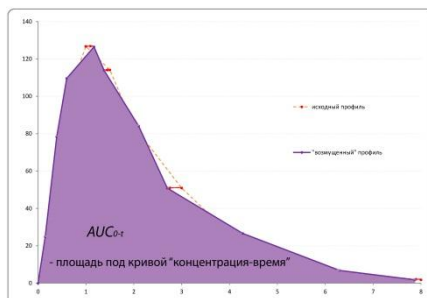
Мы попытались показать это на рисунке.

Пунктиром показан фармакокинетический профиль, который должен был получиться, если бы регистрировалось реальное время взятия крови.

Фиолетовым – «возмущенный» профиль, искаженный в результате ошибок фиксации времени.



Ошибка фиксации времени забора проб крови вносит дополнительный вклад в вариацию параметров, используемых при оценке биоэквивалентности. Речь идет о площади под кривой «концентрация-время» и отношении максимальной концентрации к площади под кривой.



По нашим оценкам ошибка фиксации времени забора крови в отдельных случаях может достигать 10 мин.

Хочу заметить, что во всех без исключения статьях и отчетах по клиническим исследованиям биоэквивалентности лекарственных препаратов, которые мы видели, индивидуальные фармакокинетические профили рассчитываются на основе планового, а не реального времени взятия крови.

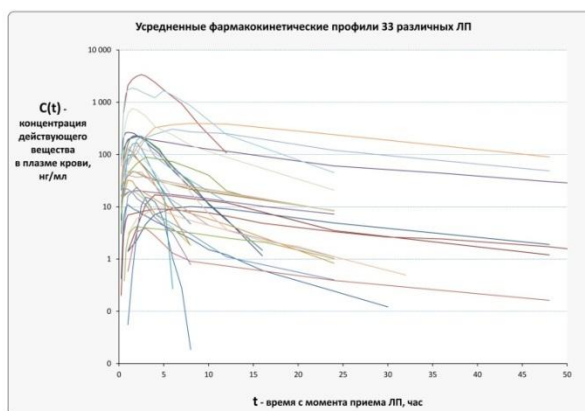
Мы задались вопросами:

- А так ли уж значима ошибка фиксации времени для конечных выводов о биоэквивалентности?
- В каких случаях влияние этой ошибки существенно?
- Какая величина ошибки может считаться допустимой?

По нашему замыслу ответы на эти вопросы будут иметь практическую значимость и могут повысить качество клинических исследований биоэквивалентности.

В соответствии с методическими указаниями Минздравсоцразвития расчет параметра AUC_{0-t} (площади под кривой «концентрация-время») осуществляется по экспериментальным данным «концентрация-время».

Поэтому степень влияния ошибок фиксации времени забора крови на оценку параметра AUC_{0-t} будет определяться фармакокинетическим профилем.



Основываясь на аксиоматике теории вероятностей, а также допущениях, не противоречащих методическим указаниям Минздравсоцразвития, была разработана соответствующая математическая модель.

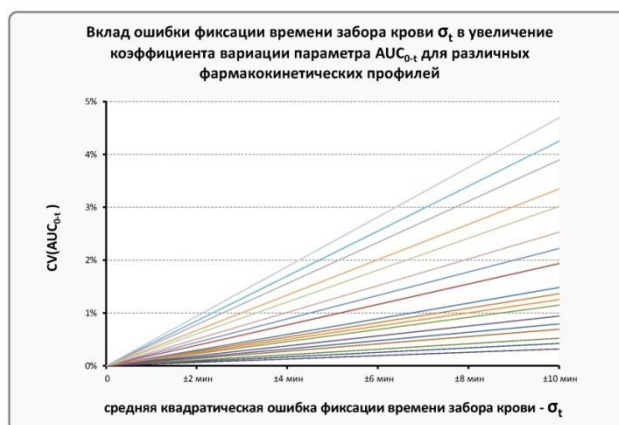
Для проведения исследований в качестве примеров было выбраны усредненные фармакокинетические профили 33 лекарственных препаратов, полученных в результате клинических испытаний и опубликованных в интернете в виде статей и отчетов.

Диапазоны значений фармакокинетических параметров (для 33 различных ЛП)

C_{max} , нг/мл	4 ... 3 400
t_{max} , час	0,5 ... 8
AUC_{0-t} , нг · час / мл	30 ... 16 000
C_{max} / AUC_{0-t} , час ⁻¹	0,03 ... 0,4
MRT, час	2 ... 30
$t_{1/2}$, час	0,4 ... 30
K_{el} , час ⁻¹	0,02 ... 2
n (количество заборов крови у одного добровольца)	6 ... 24 шт.
t_n	6 ... 120 час

Как видно из таблицы, фармакокинетические параметры профилей, использованных в настоящем исследовании, варьируются в широком диапазоне значений.

И хотя, охватить все многообразие фармакокинетических профилей вряд ли возможно, даже такой небольшой набор профилей позволил с помощью математического моделирования выявить ряд закономерностей и сделать некоторые предварительные выводы.

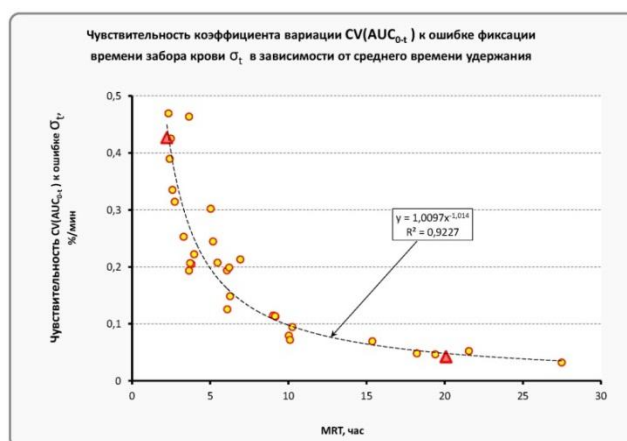


На слайде представлены результаты расчетов, иллюстрирующие как увеличивается вариация площади под кривой «концентрация-время» с увеличением ошибки фиксации времени забора крови σ_t . Каждая из прямых соответствует какому-то определенному фармакокинетическому профилю. Например, для этого профиля эта точка означает, что ошибка фиксации времени в 10 минут на 5% увеличивает коэффициент вариации.

Нетрудно заметить, что степень влияния ошибки σ_t на вариацию параметра AUC_{0-t} (то есть скорость роста вариации) может более чем в 10 раз отличаться в зависимости от имеющего место профиля.

От чего же зависит степень влияния ошибки фиксации времени σ_t на вариацию площади под кривой - $CV(AUC_{0-t})$?

Исследования показали, что определяющим в данном случае является среднее время удерживания действующего вещества – MRT.

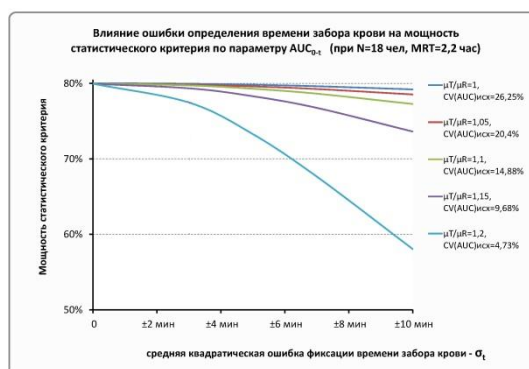


На этом слайде представлены результаты регрессионного анализа. Видно, что с высокой степенью достоверности (более 92%) зависимость от MRT чувствительности коэффициента вариации параметра AUC_{0-t} к ошибке σ_t описывается гиперболой.

В практическом плане из полученных результатов можно сделать предварительный вывод о том, что для ЛП длительного действия (с величиной MRT равной 9 часов и более) ошибка фиксации времени забора крови мало влияет на вариацию AUC_{0-t} .

В то же время для лекарственных препаратов с величиной MRT, не превышающей 6 часов (показываю на слайде), ошибки фиксации времени забора крови желательно учитывать.

Это подтверждает следующее.

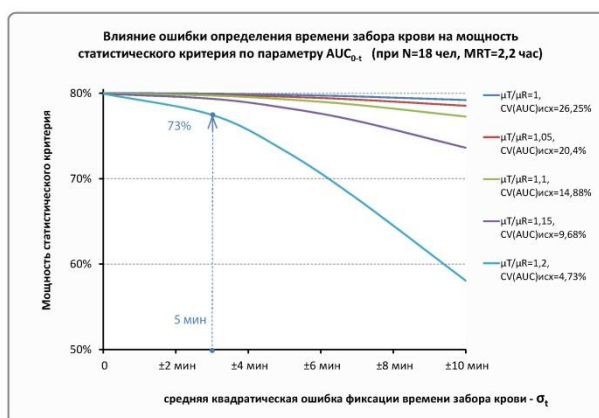


На этом слайде для разных вариантов показано как влияет ошибка фиксации времени взятия пробы крови σ_t на снижение мощности статистических критериев биоэквивалентности по параметру площадь под кривой AUC_{0-t} .

Исследования показали, что наличие ошибки фиксации времени может привести к существенному снижению мощности статистических критериев биоэквивалентности и к снижению уровня доверия при построении доверительных интервалов.

Это в свою очередь может привести к завышению требуемого объема выборки по сравнению со случаем отсутствия вышеупомянутых ошибок.

(Показываю на слайде) Так при относительной биодоступности $\mu_T/\mu_R = 1,1$ ошибка фиксации времени забора крови $\sigma_t = \pm 5$ мин снижает мощность статистического критерия по параметру AUC_{0-t} - с 80% до 79%.



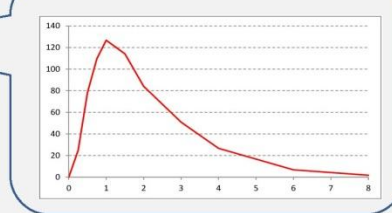
Такая же ошибка в случае большего отличия средних, например, при относительной биодоступности $\mu_T/\mu_R = 1,2$, снизит мощность уже до 73%.

Для компенсации такого снижения потребуются увеличение количества добровольцев с 18 до 22 человек, т.е. имеет место завышение объема выборки на 4 человека. Оценка показывает, что в этих условиях повышение точности фиксации времени забора крови до $\sigma_t = \pm 1$ мин позволит снизить вариацию и тем самым сохранить требуемый объем выборки в количестве 18 человек.

В заключение хотелось бы привести еще один пример.

ПРИМЕР

Планирование	Ref: $AUC_{0-t}=330$ нг· час /мл, MRT=2,2 час, n=11 отборов $CV(AUC_{0-t})=13,8\%$, $\sigma_c=8,5\%$
	Test: ?
	При N=18 чел и $0,91 \leq \mu_T/\mu_R \leq 1,11$ Имеем мощность: $1-\beta \geq 80\%$



Результат КИ	$\mu_T/\mu_R=1,18$, $CV(AUC_{0-t})=14,4\%$ ($\sigma_c=8,5\%$, $\sigma_t=10$ мин) 90%-й ДИ для $\mu_T/\mu_R=[1,113; 1,251]$
	Вывод: небиоэквивалентны Оцениваем мощность: $1-\beta = 32\% \leq 80\%$ ⇒ требуется дополнит. набор добровольцев

альтернатива

Продолжение КИ	Дополнительный набор добровольцев: $\Delta N=60$ чел (!)
	Результат: $CV(AUC_{0-t})=14,4\%$ 90%-й ДИ для $\mu_T/\mu_R=[1,149; 1,212]$
	Вывод: биоэквивалентны

Продолжение КИ	При N=18 чел обеспечиваем $\sigma_t=1$ мин
	Результат: $CV(AUC_{0-t})=13,8\%$ 90%-й ДИ для $\mu_T/\mu_R=[1,115; 1,248]$
	Вывод: биоэквивалентны

Пусть планируются исследование, в которых о референтном препарате известно, что $AUC_{0-t}=330$ нг· час /мл, MRT=2,2 час, n=11 отборов, $CV(AUC_{0-t})=13,8\%$, $\sigma_c=8,5\%$.

Новый же дженерик еще на добровольцах не испытывался. Получается, что при N=18 чел и $0,91 \leq \mu_T/\mu_R \leq 1,11$ мощность статистического теста будет на требуемом уровне $1-\beta \geq 80\%$.

При проведении испытаний время взятия проб крови фиксировали с ошибкой 10 минут. Получили $\mu_T/\mu_R=1,154$, $CV(AUC_{0-t})=14,4\%$. Двусторонний 90%-й доверительный интервал для $\mu_T/\mu_R=[1,062; 1,254]$.

То есть получилось: препараты – небиоэквивалентны. Мощность статистического теста $1-\beta = 48\% \leq 80\%$. Поэтому необходим дополнительный набор добровольцев – требуемый объем выборки составляет 42 чел. Продолжение клинических исследований сопряжено с дополнительными затратами. После проведения испытаний еще с 24 добровольцами двусторонний 90%-й доверительный интервал для $\mu_T/\mu_R=[1,066; 1,249]$. Вывод препараты – биоэквивалентны.

Такой ситуации, когда получили ошибочный вывод, можно было избежать, если бы время взятия проб крови фиксировали с точностью до 1 минуты. Тогда 90%-й доверительный интервал для $\mu_T/\mu_R=[1,066; 1,249]$ и сразу получили бы правильный вывод – препараты биоэквивалентны.

Таким образом

1. Разработана математическая модель для учета влияния ошибки фиксации времени забора проб крови на вариацию параметра AUC_{0-t} . Достоверность аналитической модели проверена методом Монте-Карло на собственной имитационно-статистической модели.

2. На примере 33 различных лекарственных препаратов исследовано влияние ошибок фиксации времени забора крови на увеличение вариации параметра AUC_{0-t} и выявлен ряд закономерностей.
3. Ошибка фиксации времени забора пробы крови в отдельных случаях может существенно снизить достоверность выводов о биоэквивалентности лекарственных препаратов.
4. В условиях, когда требуемый объем выборки составляет более 18 человек, в отдельных случаях за счет повышения точности фиксации времени забора проб крови возможно сокращение общего количества добровольцев.
5. Мы предлагаем с целью повышения достоверности результатов:
 - при проведении клинических исследований биоэквивалентности фиксировать в индивидуальной регистрационной карте (CRF) добровольца фактическое время взятия каждой пробы крови и учитывать это время при последующей статистической обработке;
 - при исследовании биоэквивалентности лекарственных препаратов со средним временем удерживания (MRT) 6 часов и менее так организовать клинические испытания, чтобы ошибка фиксации времени забора крови была в пределах ± 1 мин.

Спасибо за внимание