

УДК 616.151.514-085.273.52

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-11-18

## Принципы клинических исследований препаратов фактора свертывания крови IX

Ж.И. Авдеева, А.А. Солдатов, В.П. Бондарев, В.А. Меркулов

*Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия Федерация*

Обзор материалов, касающихся научных принципов, лежащих в основе клинических исследований лекарственных препаратов фактора свертывания крови IX, полученных с использованием технологии рекомбинантных ДНК или из плазмы крови доноров. Наследственный дефицит функционально активного фактора свертывания крови IX или низкий уровень его синтеза приводят к развитию гемофилии В. Больным гемофилией требуется постоянная заместительная терапия препаратами фактора IX. Достижения в области генно-инженерных технологий, а также совершенствование процесса производства биологических препаратов позволяет разрабатывать современные высокоэффективные лекарственные средства, которые успешно применяются для лечения пациентов с гемофилией. Регистрация вновь разработанных препаратов и лекарственных средств, произведенных по измененной технологии, предусматривает проведение клинических исследований. Принципы этих исследований регламентируются положениями регулярно обновляющихся нормативных документов. Соблюдение отечественных и международных рекомендаций, определяющих условия клинических испытаний лекарственных средств, позволяет гарантировать их безопасность и способствует разработке препаратов, обеспечивающих качественное лечение пациентов с гемофилией.

**Ключевые слова:** гемофилия, дети, заместительная терапия, фактор IX, клинические исследования

Поступила в редакцию 04.06.2020 г. Принята к печати 03.07.2020 г.

**Для цитирования:** Авдеева Ж.И., Солдатов А.А., Бондарев В.П., Меркулов В.А. Принципы клинических исследований препаратов фактора свертывания крови IX. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;3:11–8. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-11-18

**Для корреспонденции:** Авдеева Жанна Ильдаровна – д-р мед. наук, профессор, главный эксперт центра экспертизы и контроля НЦЭСМП (121002, г. Москва, ул. Сивцев Вражек, 41), ORCID: 0000-0002-9377-1378; e-mail: avd-cytok@yandex.ru

## Principles for clinical trials of coagulation factor IX products

Zh.I. Avdeeva, A.A. Soldatov, V.P. Bondarev, V.A. Merkulov

*Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia*

**Summary:** Review of materials related to scientific principles underlying clinical trials of coagulation factor IX medications obtained using recombinant DNA technique or from donors' blood plasma. Inherited deficiency of functional active coagulation factor IX or a low level of its synthesis lead to the development of hemophilia B. Patients with hemophilia require a continuous replacement therapy with factor IX medications. Achievements in the area of genetically engineering technologies as well as improvement of production process of biological products allow developing modern highly efficient medications which are successfully used to treat patients with hemophilia. Registration of newly developed medications and medications produced according to the modified technology requires clinical trials. Principles of these trials are regulated by the clauses of regularly updated regulatory documents. Compliance with national and international guidelines determining the conditions for clinical trials of medications allows us to guarantee their safety and promotes the development of medications efficient to treat patients with hemophilia.

**Keywords:** hemophilia, children, replacement therapy, factor IX, clinical trials

Received: 4 June 2020; Accepted: 3 July 2020

**For citation:** Avdeeva ZhI, Soldatov AA, Bondarev VP, Merkulov VA. Principles for clinical trials of coagulation factor IX products. *Pacific Medical Journal*. 2020;3:11–8. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-11-18

**Corresponding author:** Zhanna I. Avdeeva, MD, PhD, professor, chief expert of the Center for Examination and Control, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (41 Sivtsev Vrazhek St., Moscow, 121002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-9377-1378; e-mail: avd-cytok@yandex.ru

Гемофилия относится к группе наследственных геморрагических коагулопатий, как правило, связанных с генетически детерминированным дефицитом активности факторов свертывания крови. Клиническим проявлением гемофилии служит склонность к спонтанным или вызванным травмой кровотечениям. Заместительная терапия препаратами факторов свертывания крови – базовый вид лечения указан-

ной патологии, позволяющий не только сохранить трудоспособность пациента, но и обеспечивающий достойное качество жизни. Для эффективного лечения гемофилии разрабатываются новые лекарственные препараты, а также проводятся исследования по усовершенствованию технологии получения уже применяемых в клинической практике лекарств, что в ряде случаев требует проведения клинических ис-

следований. Дизайн этих исследований в указанных условиях будет различаться.

При разработке программ клинических исследований, необходимо учитывать проблемы, связанные с набором достаточного количества пациентов, поскольку гемофилия относится к орфанным заболеваниям. При этом оценка эффективности и безопасности лекарственных средств должна быть проверена на людях разных возрастных групп, как ранее леченных препаратами факторов свертывания крови, так и непринимавших их, а также пациентов с наличием антител-ингибиторов. Все это усложняет разработку программ исследования. Для обеспечения безопасности и эффективности практического использования препаратов необходимо следовать рекомендациям нормативных документов, регламентирующих условия проведения клинических испытаний. К базовым документам в этой отрасли относятся руководства Европейского агентства лекарственных средств (European Medicines Agency, EMA), которые регулярно обновляются с учетом совершенствования технологии производства препаратов и накопления новых научных знаний [1, 2]. Отечественные рекомендации [3], включая разрабатываемые специалистами Евразийского экономического союза, гармонизированы с вышеуказанными документами. В данном обзоре отражены основные принципы разработки программ и проведения клинических исследований препаратов фактора свертывания крови IX, предназначенных для лечения гемофилии.

#### ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Гемофилия – наследственная патология, сцепленная с X-хромосомой. Заболевание обусловлено нарушением тромбопластинообразования за счет снижения или полного отсутствия синтеза коагулирующих факторов – VIII, IX или XI, что объясняется мутациями соответствующих генов. Гемофилия наследуется по рецессивному признаку, сцепленному с полом. Обычно мальчики, которые получают от матери патологически измененную X-хромосому, заболевают гемофилией. Однако гены факторов VIII и IX также склонны к изменениям, поэтому гемофилия в трети случаев становится результатом спонтанной мутации при отсутствии генетической предрасположенности к заболеванию [4, 5].

Гемофилия встречается приблизительно у одного из 10000 новорожденных. Согласно оценке, основанной на ежегодном глобальном опросе Всемирной федерации гемофилии, число пациентов с этим заболеванием в мире составляет приблизительно 400000 человек [6]. Подавляющее большинство больных – мужчины. Известны единичные случаи гемофилии у женщин при наследовании генов от отца (больного гемофилией) и матери (носителя гена) или при мутации гена на одной хромосоме и отсутствии его активности – на другой (болезнь Шерешевского–Тёрнера и др.).

Клинические проявления гемофилии также могут встречаться у женщин с мутациями генов факторов свертывания крови IX или VIII.

Склонность больных гемофилией к спонтанным и индуцированным кровотечениям проявляется в виде гемартрозов конечностей, подкожных или внутримышечных гематом. Реже наблюдаются желудочно-кишечные кровотечения, гематурия, кровоизлияния в брюшную полость и забрюшинные гематомы. Обильные кровотечения длительного характера могут быть спровоцированы серьезной травмой или хирургическим вмешательством. При неправильном или несвоевременном лечении возможны тяжелые последствия вплоть до летального исхода.

Тяжесть клинического течения гемофилии зависит от степени недостаточности коагуляционной активности плазменных факторов свертывания крови. В зависимости от клинических проявлений заболевания выделяют три формы. Тяжелая форма гемофилии (уровень активности факторов свертывания менее 1%) характеризуется тяжелым геморрагическим синдромом, появляющимся в раннем возрасте, начиная с первых дней и месяцев жизни. При умеренной и среднетяжелой формах (уровень активности факторов свертывания – 1–5%) симптомы, как правило, развиваются в дошкольном возрасте. Легкая форма гемофилии (уровень активности факторов свертывания выше 5%) характеризуется развитием симптоматики в школьном возрасте и кровотечениями, возникающими только после травм или медицинских вмешательств.

В зависимости от дефицита факторов свертывания крови выделяют три типа гемофилии. Тип А (классический) обусловлен дефицитом фактора свертывания VIII, при этом в крови больных этот фактор (антигемофильный глобулин А) отсутствует полностью или находится в функционально неполноценной форме. Такой тип гемофилии встречается в 85% наблюдений. Гемофилия типа В (13% наблюдений) вызывается недостаточной активностью фактора свертывания крови IX, гемофилия типа С (1–2% наблюдений) – недостаточностью фактора свертывания крови XI (предшественника тромбопластина). Типы гемофилии имеют одинаковые клинические симптомы, но их диагностика, которая базируется лишь на результатах лабораторного исследования, важна для лечения.

**Фактор свертывания крови IX** (Кристалмас-фактор, антигемофильный глобулин В) относится к 5-глобулинам и принимает активное участие в первой фазе плазменного гемостаза (протромбинообразование). На следующих этапах свертывания крови он не потребляется. Фактор IX образуется в печени, поэтому у больных гепатитами и циррозом печени, а также у лиц, принимающих производные дикумарина и индадиола, его содержание в крови снижается. Большинство кровотечений при острых заболеваниях печени связывают с недостатком именно этого

фактора. Приобретенный дефицит антигемофильного глобулина В обнаруживается не только при заболеваниях печени, но также при болезни Гоше и у пациентов с нефротическим синдромом. Выработка фактора IX регулируется геном в X-хромосоме, в локусе, отстоящем от локуса гена фактора VIII. Данный ген мутирует в 7–10 раз реже, чем ген фактора VIII. В связи с этим гемофилия В (врожденный недостаток фактора IX – болезнь Кристмаса) наблюдается значительно реже, чем гемофилия А [5].

Активность фактора IX в плазме крови в норме составляет 60–140 %. Минимальный гемостатический уровень этой активности для выполнения хирургических вмешательств – 20–25 %, при более низком содержании риск послеоперационных кровотечений чрезвычайно велик. Минимальный гемостатический уровень фактора IX в крови для остановки кровотечения – 10–15 %, при более низкой его концентрации остановка кровотечения без введения этого фактора невозможна [7].

#### Препараты для лечения гемофилии

Основной вид лечения гемофилии – заместительная терапия препаратами факторов свертывания крови, которые купируют развившиеся или предупреждают спонтанные кровотечения. Первым лекарственным средством для лечения гемофилии стал препарат фактора VIII, полученный из плазмы крови доноров и зарегистрированный в 1966 г. Позднее было установлено, что медикаменты из плазмы крови могут быть источником вирусов иммунодефицита человека, гепатита С и др. Для снижения риска инфицирования в производственный процесс были внедрены способы элиминации и инактивации вирусов.

Достижения в области биотехнологии позволили разрабатывать препараты факторов свертывания на основе рекомбинантных ДНК. В 1992 г. был зарегистрирован рекомбинантный препарат фактора VIII, в 1997 г. – фактора IX. Использование в клинической практике лекарств, созданных на основе рекомбинантных белков, исключает возможность инфицирования. Однако серьезной проблемой как рекомбинантных, так и полученных из плазмы препаратов, остается их «нежелательная иммуногенность». У пациентов могут формироваться антитела-ингибиторы, которые блокируют специфическую активность препаратов, что приводит к снижению их клинической эффективности и развитию побочных реакций.

Следует учитывать, что препараты фактора IX, полученные из плазмы, могут содержать другие факторы, участвующие в коагуляции (II, VII и X), в связи с чем их применение ассоциируется с риском тромбоза. Соблюдение правил надлежащей производственной практики в процессе производства препаратов факторов свертывания крови обеспечивают отсутствие в них тромбогенных примесей и изменений иммуногенных свойств.

Вирусная безопасность биотехнологических лекарственных средств обеспечивается включением в производственный процесс эффективных стадий инактивации и/или элиминации вирусов [8–11]. Вирусная безопасность препаратов, получаемых из плазмы крови человека, включая препараты фактора IX, обеспечивается также путем отбора доноров, тестирования индивидуальных донаций и пулов плазмы крови на содержание маркеров известных вирусных инфекций. В целом совершенствование технологии производства препаратов из крови доноров обеспечивает их безопасность. С конца 1980-х годов случаев инфицирования пациентов после введения препаратов факторов свертывания крови плазменного происхождения в мире не зафиксировано. Исследования по разработке новых лекарственных средств из этой группы и совершенствование технологии их производства продолжают [12, 13]. Идут также исследования по улучшению способов лечения пациентов с гемофилией.

#### КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ IX

Клинические исследования безопасности и эффективности лекарственных средств проводятся в двух случаях: при разработке нового (оригинального, референтного) препарата и при внесении существенных изменений в процесс производства препарата, имеющего опыт клинического применения, например, при введении дополнительных стадий инактивации и/или элиминации вирусов, новых способов очистки белка и др.

Дизайн клинических исследований по оценке эффективности и безопасности новых препаратов отличается от исследований по сопоставимости лекарственных средств, полученных до и после внесения изменений в процесс производства. Также дизайн исследований зависит от особенностей характеристик препаратов и источника их получения (например, лекарства на основе человеческих плазменных коагуляционных факторов или полученные по технологии рекомбинантных ДНК). Результаты клинических исследований до регистрации должны быть подтверждены в последующих пострегистрационных испытаниях, позволяющих получить дополнительную информацию по эффективности и безопасности лекарственного средства [1, 2].

#### Общие принципы клинических исследований

Клинические исследования выполняются в соответствии с рекомендациями, изложенными в отечественных и международных руководствах по принципам проведения клинических исследований и надлежащей клинической практике [14–19]. При клинических испытаниях препаратов на основе фактора IX (рекомбинантных и из плазмы крови) и изначальном изучении их фармакокинетики (ФК) оценивают

следующие показатели: восстановление активности, период полувыведения и клиренс, которые считаются наиболее важными суррогатными конечными точками.

Следует учитывать, что ФК препаратов фактора IX, рекомбинантного и полученного из плазмы крови, отличается. При сравнительных исследованиях этих параметров группой Genetics Institute, Inc. было показано, что периоды полувыведения этих лекарственных средств практически идентичны, тогда как показатели восстановления активности *in vivo* статистически значимо различаются. Объяснением более низкого уровня восстановления *in vivo* рекомбинантного фактора IX служит отсутствие фосфорилирования остатка Ser158 и низкий уровень сульфатирования Tyr155 [20]. Установлено, что инфузия препарата рекомбинантного фактора IX, обогащенного сульфатированной формой, приводит к увеличению уровня его восстановления *in vivo*. Отмечено, что в составе активационного пептида сульфатированный Tyr155 и фосфорилированный остаток Ser158 расположены в непосредственной близости друг от друга и от олигосахаридной группы, связанной с остатком Asn157. Указанная локализация создает определенные трудности в попытках разделения фосфорилированной и сульфатированной форм препарата для изменения его фармакологических свойств.

При исследованиях ФК рекомендуется применять один метод оценки содержания фактора IX в препарате и постинфузионных образцах плазмы крови пациента, поскольку в зависимости от используемого метода, реагентов и стандартных образцов полученные оценки могут значительно отличаться и влиять на результаты мониторинга. Оптимальным считается проведение анализов в центральной лаборатории, что снижает вариабельность результатов. Образцы проб всех, включенных в клиническое исследование пациентов, полученные до лечения и в процессе испытаний, должны храниться при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  для того, чтобы при необходимости можно было провести повторное тестирование.

Во время клинических исследований у всех пациентов, принимающих препараты фактора IX, должны оцениваться параметры безопасности, включая иммуногенность и частоту побочных реакций, а также влияние препарата на жизненно важные показатели. При исследованиях новых препаратов фактора IX для оценки риска тромбоэмболических осложнений определяют маркеры активации коагуляции (фрагменты протромбина 1+2, комплексов «тромбин–антитромбин» и D-димера).

#### Нежелательная иммуногенность препаратов

Вопросы, касающиеся проявлений иммуногенного потенциала препаратов фактора IX, требуют особого внимания, поскольку выработка специфических антител, которые нейтрализуют факторы свертывания крови VIII и IX, считается самым тяжелым осложнением

лечения гемофилии. Указанные антитела определяются термином «ингибиторы». Для их детекции используют метод Бетезда или его модификацию (Нимегена). Диагноз ингибиторной гемофилии устанавливается при титре ингибитора  $\geq 0,6$  БЕ.

При заместительной терапии препаратами фактора IX формирование специфических антител отмечают приблизительно в 3% случаев, что значительно реже, чем при использовании фактора VIII (до 25–30% случаев). В сыворотке крови таких пациентов определяются иммуноглобулины класса E или G, специфичные к фактору IX [21, 22]. Указывается, что до 50% пациентов с наличием таких ингибиторов подвержены риску тяжелых аллергических реакций и анафилаксии. Как правило, формирование антител-ингибиторов ассоциируется с полной делецией гена фактора IX. При введении рекомбинантных факторов свертывания крови отдельные авторы отмечали более частое формирование специфических антител по сравнению с аналогичными препаратами из плазмы крови доноров [23].

Наиболее часто ингибиторы формируются в первые 50 дней введения препаратов фактора свертывания крови или после интенсивной терапии при хирургическом вмешательстве. Появление таких антител значительно усложняет лечение гемофилии. Для повышения безопасности терапии, связанной с «нежелательной иммуногенностью», перспективной считается разработка препаратов на основе биологически неактивных вариантов фактора свертывания крови IX [13, 22].

В процессе исследования иммуногенности забор образцов крови для детекции антител-ингибиторов рекомендуется проводить не ранее, чем через три дня после введения лекарственного средства, поскольку «отмывочный период» здесь составляет четыре дня. Соблюдение указанных сроков позволяет исключить влияние на результаты остаточного содержания препарата в исследуемых образцах плазмы крови. В случае нахождения специфических антител должен быть проведен анализ с учетом частоты их выявления, влияния на клинические эффекты, т.е. определена клиническая значимость наличия ингибиторов, а также собраны сведения о терапевтических дозах и количестве дней приема препарата. Образцы плазмы крови пациентов, у которых выявлены антитела-ингибиторы или подозреваются их наличие, должны храниться до конца клинического исследования, чтобы в случае необходимости провести повторный анализ.

#### Выбор пациентов

Особого внимания при разработке программы клинических исследований требует вопрос о включении в него пациентов всех возрастных групп. При этом с целью адекватной оценки эффективности и безопасности лекарственных средств в исследования должны быть включены не только пациенты, ранее леченные препаратами фактора IX, но и ранее нелеченные ими.

Ранее нелечеными считаются люди, которые никогда не принимали подобных препаратов, однако могли предварительно получать компоненты крови. Таких пациентов включают в клинические исследования в случае изучения новых рекомбинантных препаратов фактора IX (например, препарата на основе модифицированного белка, характеризующегося увеличенным периодом полувыведения, при использовании новой линии клеток с ограниченным опытом применения и др.). Для лекарственных средств, полученных из плазмы, проведение исследований с участием ранее нелеченных лиц требуется, например, при апробации новых способов производства. При этом вопрос о необходимости подобных испытаний рассматривается отдельно в каждом конкретном случае [1, 2].

Также при разработке программы клинических исследований особого внимания требует проблема выбора пациентов и определения критериев их включения в зависимости от тяжести заболевания. Принимая во внимание, что гемофилия В относится к орфанной нозологии, в исследование может быть включено ограниченное число лиц, однако их количество должно быть оптимальным для получения достоверных данных.

Последовательность включения пациентов в зависимости от возрастных категорий определяется тем, что дети более младшего возраста обследуются после завершения испытаний с участием детей старшей возрастной группы. Необходимо предусмотреть поэтапное выполнение исследования, начиная со старшей возрастной группы: дети 12 лет и старше, затем дети в возрасте от 12 до 6 лет и затем – до 6 лет. Общие принципы клинических испытаний с участием детского контингента должны соответствовать требованиям, утвержденным правилами проведения исследований детской популяции [24].

В основном, результаты предрегистрационных испытаний, выполненных на небольшом числе пациентов, считаются недостаточными для анализа всех аспектов терапии препаратами фактора IX, в частности, для оценки безопасности, связанной с «нежелательной иммуногенностью». Для получения дополнительной информации и подтверждения данных, полученных на предрегистрационном этапе, должны быть проведены клинические исследования после регистрации препарата.

#### ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ РЕГИСТРАЦИИ ПРЕПАРАТОВ, ЗАЯВЛЯЕМЫХ КАК НОВЫЕ (ОРИГИНАЛЬНЫЕ/РЕФЕРЕНТНЫЕ)

Параметры ФК, профиль эффективности и безопасности нового препарата фактора IX должны быть изучены в рамках предрегистрационных испытаний с участием как ранее леченных, так и нелеченных пациентов. Как правило, в клинические исследования препарата, представляемого для регистрации в качестве «нового», должно быть включено не менее 40 человек. Предполагается, что указанное число пациентов будет

достаточным для получения достоверной информации об общих аспектах безопасности и демонстрации эффективности лекарства в отношении его способности восстановить уровень фактора IX и достичь гемостаза, купировать развившиеся и предотвратить спонтанные кровотечения [2].

Клиническая разработка таких лекарственных средств основывается на поэтапном подходе к выбору испытуемых по возрасту и факту предварительного лечения. Исходной когортой, подлежащей исследованию, считаются ранее леченные пациенты в возрасте 12 лет и старше. После того, как ФК, эффективность и безопасность будут оценены у десяти таких испытуемых, получивших препарат, по меньшей мере, 50 дней, может быть начато клиническое исследование с участием детей в возрасте до 12 лет. После оценки ФК, выполняют анализ эффективности и безопасности препарата, введившегося по меньшей мере 50 дней, у 20 детей.

Во всех случаях должно выполняться тестирование на антитела-ингибиторы. При их обнаружении проводят анализ с учетом частоты выявления и срока их формирования, т.е. количества дней приема препарата и клинической значимости наличия ингибиторов. К моменту регистрации нового препарата также должны быть получены и проанализированы результаты оценки эффективности и безопасности по 20 ранее нелеченым пациентам, принимавшим препарат, как минимум, 50 дней [2].

Клинические исследования ранее леченных пациентов 12 лет и старше

При исследовании ФК у пациентов 12 лет и старше не должно наблюдаться спонтанных кровотечений и должны отсутствовать антитела-ингибиторы. Препарат фактора IX вводят в дозе 50–75 МЕ/кг. Образцы крови берут непосредственно перед введением лекарства (базовый уровень) и далее – в установленные сроки. Важен учет точного интервала после инфузии, при которой фактически были взяты образцы, и которые должны быть использованы при анализе результатов. Временные точки забора образцов могут быть скорректированы в зависимости от характеристик препарата с целью адекватной оценки сроков восстановления активности (например, для препаратов с продолжительным периодом полувыведения) [25]. Пациенты, принимавшие участие в исследовании ФК, в дальнейшем должны продолжать лечение тем же препаратом. Через 3–6 месяцев его приема в тех же дозах, что и в первом исследовании, у них повторно определяют перечисленные лабораторные параметры и проводят тестирование на антитела-ингибиторы.

Для оценки профилактической эффективности препарата фактора IX курс лечения должен составлять не менее шести месяцев, при этом необходимо регистрировать частоту и интервалы между кровоизлияниями, а также количество терапевтических процедур.

Эффективность оценивается путем расчета потребления фактора IX, выраженного в количестве инфузий и величины потребления препарата в МЕ/кг в месяц и в год, а также на одно событие (профилактика или лечение по показаниям, т.е. при необходимости введения препарата для остановки кровотечения или при хирургическом вмешательстве). Оценку клинической эффективности препарата при хирургическом вмешательстве проводят, как минимум, на 20 ранее леченных пациентах в возрасте 12 лет и старше, получавших это лекарственное средство более 150 дней. В течение периода наблюдения должен быть оценен клинический ответ пациентов на не менее чем 50-дневное введение препарата [2].

Клинические исследования ранее леченных детей младше 12 лет

Учитывая отличия реакций на введения лекарственных средств у детей и взрослых, проводят клинические испытания с участием пациентов младше 12 лет. Следует отметить, что такие исследования можно начинать только после того, как будет доказана безопасность препарата после 50-дневного применения у десяти детей в возрасте от 12 лет и старше, которые принимали участие в исследовании, как ранее леченные пациенты. Клинические исследования каждой возрастной когорты проводят поэтапно и начинают с оценки параметров ФК. При этом количество заборов крови может быть уменьшено, а временные интервалы между заборами – увеличены. Для препаратов фактора свертывания крови IX с длительным периодом полувыведения может потребоваться и дополнительное увеличение срока забора образцов. Исследование в указанной популяции должно продолжаться до тех пор, пока дети не получают, как минимум, 50-дневный курс введения препарата [1, 2].

Клинические исследования с участием ранее нелеченных детей

Клинические исследования в детской популяции с участием ранее нелеченных пациентов следует начинать после того, как будут завершены и проанализированы результаты анализов десяти ранее леченных детей до 12 лет, принимавших препарат 50 дней. При этом, как минимум, пять пациентов из указанных десяти, должны быть в возрасте до 6 лет. При разработке нового препарата дозировка и способ введения (при включении в инструкцию по применению) не указываются до тех пор, пока не будут получены данные по оценке эффективности и безопасности от 20 ранее нелеченных детей, получавших препарат не менее 50 дней. При этом обязательным условием считается последующее наблюдение в пострегистрационном периоде, по меньшей мере, 20–40 детей из группы ранее нелеченных, получавших препарат не менее 100 дней [2].

#### ПОСТРЕГИСТРАЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для получения дополнительной информации и подтверждения результатов предрегистрационных кли-

нических испытаний проводят пострегистрационные исследования. При этом, кроме дополнительных данных по общей безопасности и клинической эффективности препарата, особое внимание должно быть уделено вопросам иммуногенности, особенно таким, как формирование антител-ингибиторов, анафилактические реакции, а также тромботические осложнения.

Результаты испытаний, проведенных до регистрации, должны быть учтены при разработке программы пострегистрационного исследования. В нем для оценки иммуногенного потенциала лекарственного средства, как правило, должны участвовать 50 человек. Для препаратов фактора IX, полученных из плазмы крови по известной технологии, число таких участников может быть меньше. В исследование включают ранее леченных пациентов, получивших препарат более 150 дней, независимо от их возраста. При этом оптимальным считается сбалансированное распределение испытуемых по возрастным группам. Как правило, все участвующие в предварительных регистрационных клинических испытаниях, могут быть включены в пострегистрационные исследования, которые должны быть завершены в течение четырех лет [2].

#### ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ВНЕСЕНИИ ИЗМЕНЕНИЙ В ПРОЦЕСС ПРОИЗВОДСТВА

В технологию изготовления зарегистрированного препарата могут быть внесены коррективы, которые потенциально способны привести к значительным изменениям его свойств из-за переформирования молекулярной структуры белка или его биологической активности. Для оценки влияния изменений, внесенных в процесс производства, должны быть проведены исследования по сопоставимости препаратов, полученных до и после этих изменений. Объем и тип исследований зависят от характера внесенных корректив. Анализ сопоставимости лекарственных средств осуществляют поэтапно, начиная с оценки их качества. С этой целью изучают физико-химические, структурные и биологические характеристики препарата после изменений технологии его производства. Если нельзя исключить значительного влияния этих изменений на свойства препарата, определяют объем доклинических, а в случае необходимости – и клинических испытаний. Объем клинических данных может варьировать от сравнения ФК до полного объема работ, требуемых для нового лекарственного средства. Особого внимания заслуживает оценка влияния внесимых изменений на иммуногенность. В зависимости от ожидаемого риска могут потребоваться клинические исследования с перекрестным дизайном для демонстрации сходства препаратов, полученных до и после внесения изменений. Принципы исследований сопоставимости лекарственных средств до и после внесения корректив в процесс производства и соответствующие рекомендации содержатся в отечественных и международных документах, а также отражены в работах ряда авторов [26–29].

## Заключение

Наследственный дефицит активного фактора свертывания крови IX или низкий уровень его синтеза приводят к развитию гемофилии В, поскольку данный фактор – профермент протеазы, играющей центральную роль в каскаде свертывания крови. Большим гемофилией требуется постоянная заместительная терапия препаратами фактора IX для предотвращения и купирования кровоизлияний, а также сохранения жизни и трудоспособности. Достижения в области генно-инженерных технологий, а также совершенствование процессов производства биологических препаратов позволяют разрабатывать современные высокоэффективные лекарственные средства, которые успешно применяются для лечения пациентов с гемофилией. Регистрация вновь разработанных препаратов и лекарственных средств, произведенных по измененной технологии, предусматривает проведение клинических исследований. Принципы этих исследований регламентируются регулярно обновляющимися нормативными документами. Соблюдение отечественных и международных рекомендаций, определяющих условия клинических испытаний, позволяет гарантировать их безопасность и способствует разработке лекарственных средств, обеспечивающих качественное лечение пациентов с гемофилией.

**Источники финансирования:** работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## Литература / References

1. Guideline on the clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor IX products EMA/CHMP/BP-WP/144552/2009. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2011/08/WC500109691.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109691.pdf) (Accessed July 6, 2018).
2. Guideline on clinical investigation of recombinant and human plasma-derived factor IX products: Committee for medicinal products for human use. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2015/06/WC500187413.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/06/WC500187413.pdf) (Accessed July 6, 2018).
3. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). М.: Гриф и К, 2013;2:212. [Guidance on the conduct of clinical trials of drugs (immunobiological drugs). Moscow: Grif and K; 2013;2:212 (in Russ).]
4. Зозуля Н.И., Свирин П.В. Диагностика и лечение гемофилии. Национальные клинические рекомендации. Под ред. акад. В.Г. Савченко. М.: Национальное гематологическое общество, 2014:34. [Zozulya NI, Svirin PV. Diagnosis and treatment of hemophilia. National clinical guidelines. Moscow: National Hematological Society; 2014:34 (in Russ).]
5. Руководство по гематологии. Под ред. А.И. Воробьева. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2005;3:280. [Vorobuev AI, ed. Guideline for gematology. Moscow: Newdiamed; 2005;3:280 (in Russ).]
6. Руководство по лечению гемофилии. Публикация Всемирной федерации гемофилии, 2008. [Hemophilia Treatment Guide. World Federation of Hemophilia; 2008 (In Russ).] URL: <https://www.wfh.org/en/page.aspx.pid=492> (Accessed July 6, 2018).
7. Ogston D, Bennett B, eds. Hemostasis. London: Wiley; 1977.
8. ICH Q5A (R1) guideline. Quality of biotechnological products: Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. Geneva, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 1999. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q5A\\_R1/Step4/Q5A\\_R1\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5A_R1/Step4/Q5A_R1_Guideline.pdf) (Accessed July 6, 2018).
9. Guidance on virus validation studies. The design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses. London; 2009. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003795.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003795.pdf) (Accessed July 6, 2018).
10. Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products. London; 2008. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003795.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003795.pdf) (Accessed July 6, 2018).
11. Правила проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 89 от 03.11.2016. М., 2016. Глава 2. [Guideline of research of biological medicines of the Eurasian Economic Union. The decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 89 (03 Nov 2016). Moscow; 2016. Chapter 2 (In Russ).] URL: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71446406> (Accessed July 6, 2018).
12. Орлова Н.А., Ковнир С.В., Воробьев И.И., Табибов А.Г. Фактор свертывания крови IX для терапии гемофилии В. Acta Naturae. 2012;4(2):62–75. [Orlova NA, Kovnir SV, Vorobev II, Gabibov AG. The blood coagulation factor IX for treatment of hemophilia B. Russian Journal Acta Naturae. 2012;4(2): 62–75 (In Russ).]
13. Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Мосягин В.Д., Олефир Ю.В., Бондарев В.П. Основные направления по разработке и модификации препаратов для лечения гемофилии. Гематология и трансфузиология. 2016;61(4):208–15. [Soldatov AA, Avdeeva ZhI, Mosyagin VD, Olefir YuV, Bondarev VP. The main directions for the development and modification of drugs for the treatment of hemophilia. Hematology and Transfusiology. 2016;61(4):208–15 (In Russ).]
14. ICH E6 guideline. Guideline for good clinical practice. Geneva, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. 1996. URL: [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6\\_R1\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf) (Accessed July 6, 2018).
15. ICH E8 Note for guidance on general considerations for clinical trials (CPMP/ICH/291/95). URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002877.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002877.pdf) (Accessed July 6, 2018).
16. Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical product. Annex 3 in WHO Expert Committee on Selection and Use of Essential Medicines. 6<sup>th</sup> report. Geneva, WHO; 1995. URL: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip13e/whozip13e.pdf> (Accessed July 6, 2018).
17. Руководство по экспертизе лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013;1:328. [Guideline for the examination of drugs. Moscow: Grif and K; 2013;1:328 (in Russ).]
18. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013;1:944. [Guidance on the conduct of clinical trials of drugs. Moscow: Grif and K; 2013;1:944 (in Russ).]
19. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (CHMP/EWP/89249/2004). URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003029.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003029.pdf) (Accessed July 6, 2018).

20. Bond M, Jankowski M, Patel H, Karnik S, Strang A, Xu B, et al. Biochemical characterization of recombinant factor IX. *Semin Hematol.* 1998;35(S2):11–7.
21. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: A systematic review. *Haemophilia.* 2003;9(S4):418–35.
22. DiMichele D. Inhibitor development in hemophilia B: An orphan disease in need of attention. *Br J Haematol.* 2007;138(3):303–15.
23. Agostini D, Rosset C, Botton MR, Kappel DB, Vieira IA, Gorziza RP, et al. Immune system polymorphisms and factor VIII inhibitor formation in Brazilian haemophilia: A severe patients. *Haemophilia.* 2012;18(S6):416–28.
24. ICH E11 guideline. *Clinical investigation of medicinal products in the paediatric population.* Geneva, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 2000. URL: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E11/Step4/E11_Guideline.pdf) (Accessed July 6, 2018).
25. Negrier C, Knobe K, Tiede A, Giangrande P, Moss J. Enhanced pharmacokinetic properties of a glycoPEGylated recombinant factor IX: A first human dose trial in patients with hemophilia B. *Blood.* 2011;118(10):2695–701.
26. *Руководство по экспертизе лекарственных средств.* Под ред. А.Н. Миронова. Т. 3. М.: Полиграф-плюс, 2014. [Mironov AN, ed. *Guideline for the examination of drugs.* Moscow: Poligraf-Plus; 2014;3 (In Russ).]
27. *ICH Q5E Note for Guidance on Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in their Manufacturing Process.* URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002805.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002805.pdf) (Accessed July 6, 2018).
28. *Guideline on comparability of biotechnology-derived medicinal products after a change in the manufacturing process – non-clinical and clinical issues.* (EMEA/CHMP/BMWP/101695/2006). London: European Medicines Agency; 2007. URL: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003935.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003935.pdf) (Accessed July 6, 2018).
29. Авдеева Ж.И., Волкова Р.А., Алпатова Н.А., Солдагов А.А., Медуницын Н.В., Меркулов В.А. Методические приемы и принципы оценки сопоставимости биотехнологических продуктов, полученных до и после внесения изменений в процесс производства. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2013;46(2):18–21. [Avdeeva ZhI, Volkova RA, Alpatova NA, Soldatov AA, Medunitsyn NV, Merkulov VA. Methodology and principles for comparability assessment of biopharmaceuticals obtained before and after modifications in the manufacturing process. *Russian Journal of BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2013;46(2):18–21 (In Russ).]