

Биосимиляры: презумпция «виновности»

Шестакова М.В., Викулова О.К.

ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
(директор — академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

Многие хронические системные заболевания, в том числе сахарный диабет, требуют пожизненного применения биотехнологических лекарственных средств, от качества, эффективности и безопасности которых зависят продолжительность и качество жизни пациентов. Окончание срока патентной защиты на многие оригинальные биопрепараты стало ключевым фактором разработки и широкого выхода на фармацевтический рынок биосимиляров, которые представляют собой воспроизведенные версии оригинальных биотехнологических средств. Вследствие сложности структуры биологических продуктов и невозможности точного воспроизведения технологии производства, поскольку она патентуется производителями брендов, биосимиляры не являются идентичной копией оригинального препарата. Несмотря на множество свидетельств терапевтической неэквивалентности, существует опасность «автоматического» замещения оригинальных препаратов на биосимиляры в связи с более низкой стоимостью и отсутствием в России законодательных мер, регламентирующих их регистрацию и обращение. Настоящая статья содержит детальную характеристику биосимиляров и обзор основных проблем, связанных с их использованием: аспекты контроля качества, несоответствия оригинальным биопрепаратам по эффективности и безопасности, требования к проведению клинических исследований, процедуре регистрации и последующему фармаконадзору безопасности терапии.

Ключевые слова: биосимиляры, биотехнология, биотехнологические препараты, дженерики, инсулин, регуляторные нормы регистрации биосимиляров

Biosimilars: “presumption of guilt”

Shestakova M.V., Vikulova O.K.

Endocrinology Research Centre, Moscow

Some chronic systemic diseases, including diabetes mellitus, require the life-long use of biotechnological medical products, of which quality, effectiveness and safety depends the duration and quality of life for patients.

Patent protection expiry of many original biological agents has assumed the key role in development of biosimilars (replica versions of original biotechnological products) and their broad entrance to the pharmaceutical market. Because of structural complexity of biological products and impossibility of precise reproduction of patented processing, biosimilars are not ideal duplicates of original substances. Despite numerous evidence of therapeutic nonequivalence, danger of “mechanical” substitution of original agents still exists in Russia due to lower price of biosimilars — and lack of legislative acts, regulating registration and circulation of such drugs.

In this article we characterize biosimilars in great detail and review major problems of their use, that is: aspects of quality control; disparity with original bio-agents in efficacy and safety; clinical trial requirements, registration procedures and subsequent safety control.

Key words: biosimilars, biotechnology, biotechnological agents, generics, insulin, biosimilar registration regulations

Всего в течение нескольких десятилетий инновационные разработки в области биотехнологий совершили настоящую революцию в терапии таких тяжелых хронических заболеваний, как сахарный диабет (СД), инфекции, анемии, онкопатология, до настоящего времени считавшихся некурабельными.

Инсулины и их аналоги, гормон роста (ГР), эритропоэтины (ЭПО), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ), низкомолекулярные гепарины (НМГ), вакцины, моноклональные антитела (МА) — все эти препараты, без которых невозможно представить современную медицину, относятся к генерации биофармацевтиков, т.е. лекарственных средств (ЛС), полученных при помощи биотехнологий (табл. 1). Более 165 биотехнологических препаратов одобрены к клиническому применению и около 400 находятся в процессе разработки [1, 2]. Уже сейчас можно с уверенностью утверждать, что дальнейший прогресс в лечении ряда заболеваний будет во многом зависеть от возможности применения биологических ЛС, более эффективных и безопасных, избирательно действующих на патологические процессы в организме.

Окончание срока патентной защиты на многие оригинальные биопрепараты стало ключевым фактором разработки так называемых биосимиляров, которые представляют собой воспроизведенные версии оригинальных биотехнологических средств. По прогнозам статистиков, доля биосимиляров от объемов биофармацевтического рынка будет постоянно возрастать и к 2015–2020 гг. может достичь 40%, что в денежном эквиваленте составит более 100 млрд долларов [3].

Термины и определения:

- **Оригинальное ЛС** (инновационный препарат, бренд) — ЛС, содержащее впервые полученную фармацевтическую субстанцию или новую комбинацию фармацевтических субстанций, эффективность и безопасность которых подтверждены результатами доклинических и клинических исследований [4].
- **Воспроизведенное ЛС** — это ЛС, содержащее то же действующее вещество или комбинацию действующих веществ в той же лекарственной форме, что и оригинальное ЛС, и поступившее в обращение после оригинального ЛС [4]. Среди них различают:
 1. химически воспроизведенные ЛС, или дженерики;
 2. биотехнологически воспроизведенные ЛС, или биосимиляры.
- **Медицинская биотехнология** — технология получения лекарственных продуктов, необходимых для профилактики или лечения заболеваний, из живых клеток различного происхождения (бактерий, вирусов, дрожжевых грибов, культуры клеток млекопитающих и растений) [5].
- **Биотехнологическое** (или биофармацевтическое) ЛС — это ЛС, содержащее активное вещество, вырабатываемое биологическими источниками или извлекаемое из них, полученное при помощи биотехнологий: методов рекомбинантной ДНК, контролируемой экспрессии генов, гибрида и моноклональных антител, а также генотерапевтические и соматотерапевтические ЛС [6].
- **Биосимиляр** (biosimilar), или «подобный биологический лекарственный продукт» («similar biological medicinal product») — это воспроизведенное при помощи биотехнологий ЛС, схожее с оригинальным биотехнологическим ЛС, и представленное на регистрацию после истечения срока действия патента оригинального ЛС [6].

Таблица 1

Основные области применения биотехнологических лекарственных препаратов	
Терапевтическая область	Препараты
Анемия	Эритропоэтины
Анемия, лейкопения, нейтропения	Филграстим – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ)
Онкология, трансплантология	Моноклональные антитела
Сахарный диабет	Инсулины (человеческий и аналоги)
Задержка роста	Соматотропин
Тромбозы	Низкомолекулярные гепарины [НМГ]
Инфекции:	Вакцины (поверхностный антиген гепатита В и др.)
	Антибиотики

Биотехнологии относятся к одной из наиболее высокозатратных областей медицины. В связи с этим обещаемое производителями биосимиляров снижение стоимости и, соответственно, доступности лечения посредством замещения оригинальных брендов, могло бы рассматриваться в качестве потенциально благоприятного фактора. С другой стороны, использование воспроизведенных версий биотехнологических ЛС поднимает целый ряд острых проблем, связанных с необходимостью адекватной оценки их качества, соответствия оригинальным препаратам по эффективности и безопасности терапии, а также отсутствием единых стандартов и правовых законодательных мер, регламентирующих процедуру регистрации и допуска к клиническому применению. Обсуждению этих вопросов и посвящен настоящий обзор.

Впервые понятие «подобный биологический лекарственный продукт» или биосимиляр было использовано в Директиве Европейского союза (ЕС) 2003 года (ч.2, абз.4) [6], дополнившей Европейский фармацевтический кодекс 2001 года [7]. В данном документе определено, что биосимиляры следует отличать от традиционных химически воспроизведенных ЛС, т.е. дженериков, которые являются «по существу аналогичными лекарственными продуктами». В отношении биотехнологически воспроизведенных ЛС сохраняется термин «подобный биологический лекарственный продукт». Таким образом, терминологически понятия дженериков и биосимиляров четко разделены.

Чем отличаются дженерики и биосимиляры?

Во всем многообразии определений и терминов следует выделить главное: хотя и дженерики и биосимиляры являются вос-

произведенными ЛС, эти классы препаратов принципиально разные (табл. 2) в силу кардинальных отличий, существующих между обычными синтетическими и биотехнологическими препаратами.

Характеристика синтетических препаратов и дженериков

Традиционные синтетические ЛС представляют собой относительно простые химические вещества с небольшой молекулярной массой, свойства которых полностью определяются их атомарной структурой. Способ производства таких ЛС (химический синтез) также относительно прост, доступен для воспроизведения и, по крайней мере теоретически, не зависит от производителя препарата. Таким образом, при условии точного повторения химической формулы действующего вещества и соблюдении технологии производства, можно воссоздать полностью «идентичную копию» оригинального ЛС.

Критерии оценки соответствия дженериков и оригинальных синтетических ЛС к настоящему времени четко определены. Дженерики должны отвечать следующим параметрам: во-первых, содержать идентичное оригинальному продукту активное действующее вещество, а также иметь одинаковые путь введения, лекарственную форму, активность препарата и условия использования [8]. Помимо соответствия физико-химических характеристик, основным требованием к дженерикам является их «биоэквивалентность», т.е. одинаковый фармакокинетический профиль [9].

Высокая степень достоверности методов анализа и определенность критериев соответствия синтетических молекул нашли отражение в процедуре регистрации дженериков. В отличие от оригинальных ЛС, допуск которых к применению требует обязательного предоставления результатов клинических исследований эффективности и безопасности, для дженериков допустима так называемая упрощенная процедура регистрации, т.е. достаточно проведения фармакокинетических исследований биоэквивалентности [8].

Характеристика биотехнологических препаратов и биосимиляров

Биотехнологические препараты представляют собой гораздо более крупные, сложные и подчас не полностью охарактеризованные молекулы, воспроизвести которые с абсолютной точностью практически невозможно.

Активной субстанцией биотехнологических ЛС являются белки, молекула которых значимо отличается от простых синтетических препаратов по целому ряду параметров [10–13]:

- **Размер:** молекулярная масса белков варьирует от 10 до 200 тысяч дальтон, что в 100–1000 раз больше, чем у химически синтезированных препаратов

Таблица 2

Основные различия дженериков и биосимиляров		
	Дженерики	Биосимиляры
Характеристика	Сравнительно небольшие молекулы. Имеют четко установленную химическую формулу. Стабильны. Структурно-функциональные взаимоотношения четко определены	Большие и сложные молекулы. Помимо первичной, имеют вторичную, сложную пространственную третичную и четвертичную структуру. Не стабильны. Структурно-функциональные взаимоотношения не известны
Производство	Химический синтез. Воспроизводимы. Содержат идентичное оригинальному продукту активное действующее вещество	Производятся при помощи биотехнологий с использованием живых клеток. Ввиду невозможности точного воспроизводства биосимиляры не могут быть точной копией оригинального препарата
Профиль необходимых исследований	Достаточно исследований биоэквивалентности, т.е. одинаковый фармакокинетический профиль с референсным оригинальным препаратом	Необходимо проведение полного цикла доклинических и клинических исследований – проверяются на соответствие референсному оригинальному препарату по эффективности и безопасности терапии
Регистрация	Применяется упрощенная процедура регистрации	Полная процедура регистрации контролируется EMA (European Medicine Agency) и BLA (Biologic Licensing Application)
Замещение	Взаимозаменяемы без ущерба для эффективности лечения и здоровья пациента	«Автоматическая» замена оригинального биопрепарата невозможна и опасна

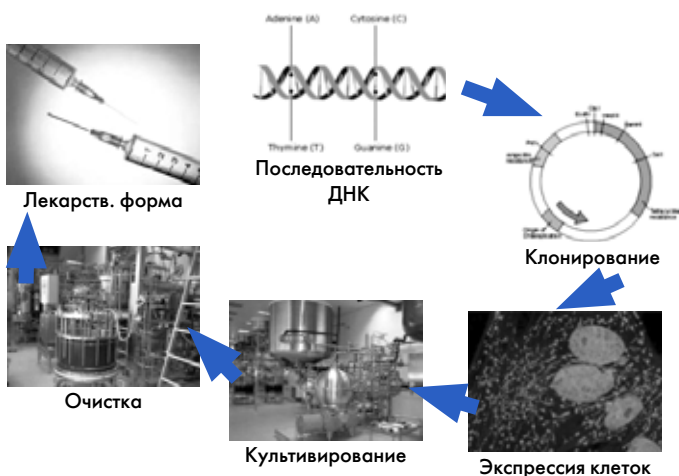


Рис. 1. Производство биотехнологических препаратов

- **Структура:** помимо первичной структуры, представленной точно известной последовательностью аминокислот каждой цепи, белки имеют вторичную (молекула, состоящая из двух цепей), а также третичную и четвертичную структуру. Третичная структура образуется при формировании пространственной конфигурации мономеров с выделением областей, ответственных за биологическую активность, что во многом определяет биологические свойства конечного продукта. Четвертичная структура связана с формированием комплексов молекул (димеров и гексамеров). Именно уникальная пространственная структура белка наиболее подвержена изменениям при самых незначительных модификациях технологического процесса [13].
- **Посттрансляционная модификация и микрогетерогенность:** большинство протеинов подвергаются посттрансляционной модификации. Так, молекула белка может трансформироваться за счет сплайсинга и внутримолекулярных сшивок (разрезание цепи и повторное сшивание фрагментов), повторов, замен аминокислот, олигомеризации (образование многомерного комплекса из нескольких молекул), а также присоединения различных групп (гликозилирование, сульфатирование, фосфорилирование). Эти процессы, с одной стороны, формируют биологически активную форму белка, а с другой – определяют наличие микрогетерогенности [14]. Наибольшая гетерогенность характерна для сложных гликозилированных белков. Препарат иммуноглобулина G может содержать до 10⁸ различных гликозилированных вариантов одной и той же молекулы [15]. Гликозилирование белка значимо влияет на его биологическую активность. Так, мало-гликозилированные формы ЭПО быстрее элиминируются в почках, что снижает эффективность препарата, и, напротив, высокая степень гликозилирования снижает клиренс гормона и повышает активность *in vivo* [16]. До 2% рекомбинантного ГР содержат точечные замены аминокислот [17]. Таким образом, **даже самый высокоочищенный конечный белковый продукт по своей природе гетерогенен, т.е. представлен не одним видом, но множеством несколько различающихся между собой белковых молекул.** Другим источником гетерогенности являются неизбежно протекающие параллельно с синтезом белка процессы окисления, дезаминирования, денатурации, агрегации и т.д. В результате этих процессов может быть получен препарат с той же молекулярной массой и даже одинаковой пространственной структурой молекулы, но с другими биологическими свойствами [14].
- **Структурно-функциональное взаимодействие:** в отличие от простых химических молекул, где каждый атом несет определенную функциональную нагрузку, структурно-функциональные взаимоотношения белков известны,

в лучшем случае, только частично [11]. Таким образом, **практически невозможно прогнозировать, какое влияние на свойства препарата могут оказать те или иные структурные изменения.**

- **Стабильность:** белки являются нестабильными молекулами. Свойства белка могут изменяться, вплоть до полной потери биологической активности, под воздействием множества факторов (условий хранения, температуры, pH среды, кислорода, органических растворителей и др.) [11].
- **Сложность процесса биотехнологического производства:** производство биологических препаратов представляет собой очень сложный, многоэтапный процесс (рис. 1), включающий:
 1. синтез кодирующей ДНК (кДНК) действующего вещества;
 2. подбор вектора и трансфекция (встраивание) кДНК в геном клетки-«хозяина»;
 3. скрининг и экспрессия рекомбинантных клеток – создание банка клеток;
 4. культивирование – наращивание необходимых объемов рекомбинантных клеток-продуцентов и получение биологического субстрата, содержащего биотехнологический продукт;
 5. выделение и очищение препарата;
 6. создание лекарственной формы (стабилизация, стандартизация по дозе, добавки).

Рассмотрим эти стадии подробнее на примере производства инсулина (рис. 2).

Биотехнологический процесс производства инсулина

На первом этапе ген препроинсулина соединяется с вектором и вводится в клетку-«хозяина» (*E. coli* или определенные виды дрожжевых грибов). Затем проводится скрининг, отбор рекомбинантных клеток и формируется главный банк клеток-продуцентов – эти процедуры осуществляются единожды при разработке препарата и являются собственностью производителя оригинального бренда. В дальнейшем отобранные клеточные линии помещаются в специальную среду, содержащую глюкозу, воду и различные соли, и культивируются. Полученный рекомбинантный белок, так называемый «белок слияния», представленный одноцепочечным протеином, последовательно соединяющим пре-сиквенс, А- и В-цепи и с-пептид, далее требуется извлечь из клеток-продуцентов, выделить, очистить, сформировать вторичную структуру (фолдинг) и произвести ферментативное расщепление (в процессе которого отделяются пре-сиквенс и с-пептид), в результате чего образуется биологически активный инсулин. Далее полученный продукт подвергается сложнейшему процессу очистки и концентрации в ходе нескольких этапов адсорбции и хроматографии. В конечном итоге проводится его кристаллизация, лиофилизация и создание лекарственной формы с добавлением соединений, препятствующих агрегации белка и росту бактерий или изменяющих характеристики всасывания инсулина *in vivo* (например, протамина) [18].

Один из важнейших аспектов – **контроль качества.** При производстве оригинальных препаратов инсулина все ингредиенты и процессы в ходе этой длинной последовательности производственных стадий: от воды и глюкозы для культуральной среды до состава примесей в конечном продукте, проходят столь же многоэтапный, очень жесткий контроль качества. Производственными лабораториями контроля качества выполняется более 50 тысяч анализов в год. Валидации подвергаются не только технологические процессы, но даже работа посудомоечных машин. Насколько производители биосимиляров, ориентированные на снижение стоимости и затрат на произ-

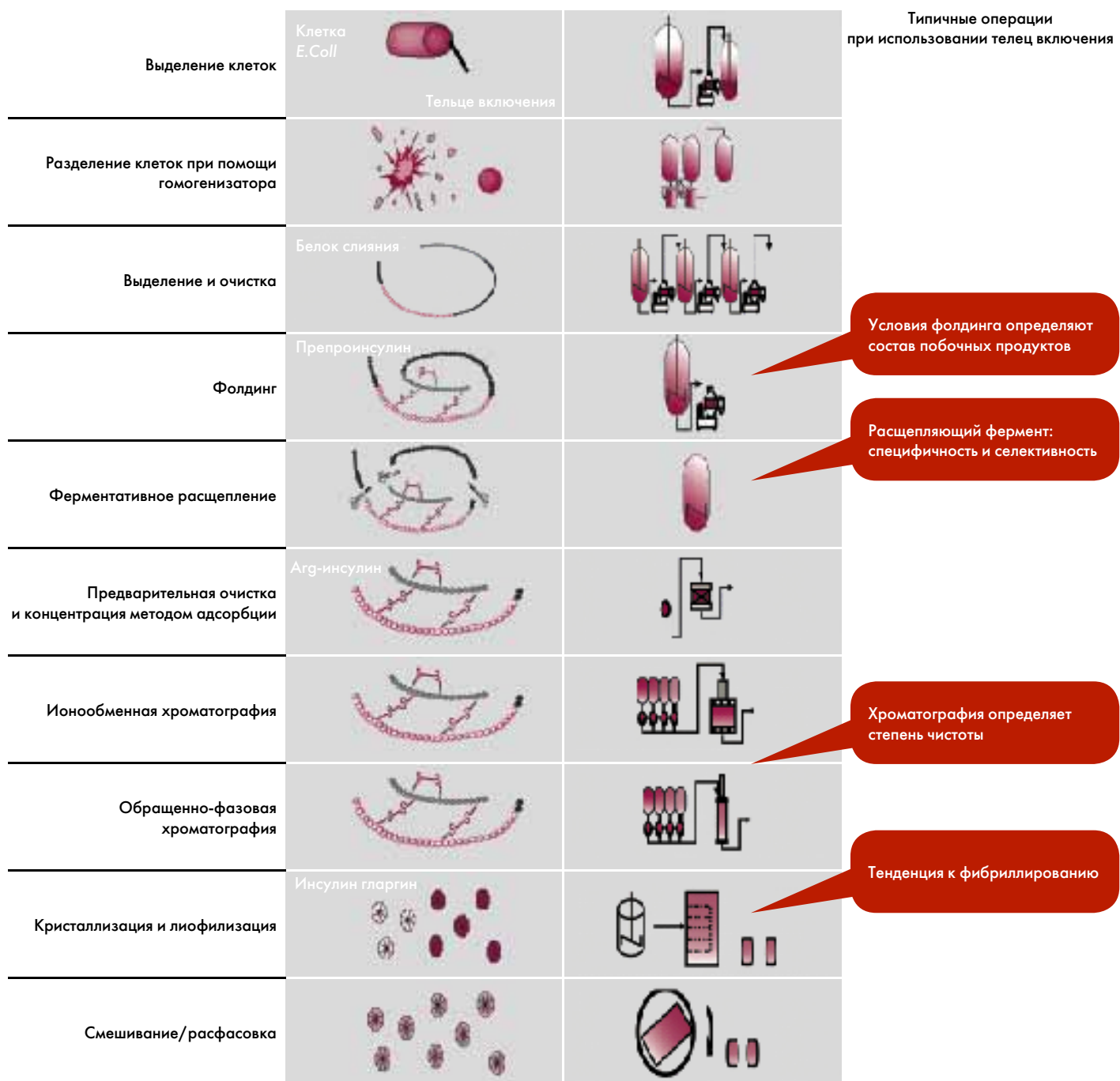


Рис. 2. Сложный многоэтапный процесс производства инсулина

водство, могут обеспечить соответствующие стандарты качества? – вопрос, который, к сожалению, не имеет однозначного ответа.

Надо сказать, что инсулин является одним из самых «простых» биотехнологических препаратов – 51 аминокислота, молекулярная масса всего 5808 Да, не гликозилируется, не имеет изоформ. Тем не менее, любые отклонения в технологии производства могут привести к получению инсулина с отличными от оригинального препарата свойствами, несмотря на идентичность первичной аминокислотной последовательности белка [19–21].

Сложность «живых систем»

Основные сложности получения действительно идентичных воспроизведенных биопрепаратов связаны с тем, что био-

технологический процесс осуществляется в «живых системах» культуры клеток, которые подвержены естественной вариативности [11–13, 19, 20]. Воспроизвести «копию» биологического продукта, не имея оригинальной субстанции (банка клеток) и точного описания технологического процесса, поскольку она патентуется производителем бренда, невозможно. Даже небольшие изменения технологии могут повлечь непредсказуемое изменение свойств конечного продукта.

Так, трансфекция клетки-«хозяина» является абсолютно уникальной процедурой, попытка повторить которую приведет к созданию другой линии рекомбинантных клеток – с отличными свойствами. Дальнейшие процессы культивирования и ферментации оптимально приспособлены к системе экспрессии оригинального банка клеток и, соответственно, тоже будут различаться [11]. Получаемый на промежуточном этапе биологический субстрат содержит не только белок произво-

Таблица 3

Характеристики препаратов рекомбинантного инсулина человека короткого действия различных производителей				
Торговое наименование	Начало действия	Пик действия, часы	Длительность, часы	Вспомогательные вещества
МНН Инсулины короткого действия				
Актрапид НМ	В течение 30 мин	1,5–3,5	7–8	Цинка хлорид, глицерол (глицерин), метакрезол, хлористоводородная кислота и/или натрия гидроксид (для корректировки pH), вода д/и
Хумулин Регуляр	20–30 мин	1–3	5–8	Метакрезол, глицерол (глицерин), вода д/и, хлороводородной кислоты раствор 10% и/или натрия гидроксида раствор 10% (для создания необходимого уровня pH)
Инсуман	30 мин	1–4	7–9	Метакрезол, натрия дигидрогенфосфата дигидрат, глицерол 85%, натрия гидроксида или хлороводородная кислота концентрированная (для доведения pH), вода д/и
Биосулин Р	30 мин	2–4	6–8	Глицерол (глицерин), метакрезол, хлористоводородная кислота и/или натрия гидроксид (для корректировки pH), вода д/и
Гансулин Р	30 мин	1–3	8	Глицерол (глицерин), метакрезол, натрия гидрофосфат безводный, хлористоводородная кислота, вода д/и
Ринсулин Р	30 мин	2–3	8	Метакрезол, глицерол, вода д/и
Генсулин Р	30 мин	1–3	до 8	Глицерол (глицерин), метакрезол, хлористоводородная кислота или натрия гидроксид до pH 7,0–7,6, вода д/и
Инсуран Р	20–30 мин	1–3	5–8	Метакрезол, глицерол, вода д/и
Росинсулин Р	20–30 мин	1–3	5–8	Нет данных

Источник: Инструкции по применению препаратов компании Ново Нордиск, актуальные на 25.07.2011, инструкции по применению препаратов, размещенные в Справочнике Видаль 2011 «Лекарственные препараты России», на сайтах www.rlsnet.ru, www.insulin-info.ru, www.pilulja.ru, www.piluli.ru, www.ros-med.info, www.lib-med.ru, www.sanofi-aventis.ru

Таблица 4

Характеристики препаратов рекомбинантного инсулина человека средней длительности действия				
Торговое наименование	Начало действия, часы	Пик действия, часы	Длительность, часы	Вспомогательные вещества
МНН Инсулин средней продолжительности действия				
Протафан НМ	1,5	4–12	24	Цинка хлорид, глицерол (глицерин), метакрезол, фенол, натрия гидрофосфата дегидрат, протамина сульфат, хлористоводородная кислота и/или натрия гидроксид (для корректировки pH), вода д/и
Хумулин НПХ	1	2–8	18–20	Метакрезол, глицерол (глицерин), фенол жидкий, протамина сульфат, натрия гидрофосфат, цинка оксид, вода д/и, хлороводородной кислоты раствор 10% и/или натрия гидроксида раствор 10% (для создания необходимого уровня pH)
Биосулин Н	1–2	6–12	18–24	Цинка оксид, натрия фосфат, протамина сульфат, метакрезол, фенол кристаллический, вода д/и
Гансулин Н	1,5	6–9	24	Протамина сульфат, натрия гидрофосфат безводный, фенол, метакрезол, глицерол, хлороводородная кислота, цинка хлорид, вода д/и
Инсуман Базал ГТ	1	3–4	11–20	Протамина сульфат, метакрезол, фенол, цинка хлорид, натрия гидрофосфата дигидрат, глицерол 85%, натрия гидроксид или хлороводородная кислота концентрированная (для доведения pH), вода д/и
Гансулин Н	1,5	3–10	до 24	Метакрезол, глицерол (глицерин), фенол, протамина сульфат, оксид цинка, натрия гидрофосфат додекагидрат, хлористоводородная кислота до pH 7–7,6, вода д/и
Инсуран НПХ	1–2	6–12	18–24	Нет данных
Ринсулин НПХ	1,5	4–12	18–24	Протамина сульфат, метакрезол, фенол кристаллический, глицерол, натрия фосфат двузамещенный дигидрат, вода д/и
Росинсулин С	1–2	2–12	18–24	Нет данных

Источник: Инструкции по применению препаратов компании Ново Нордиск, актуальные на 25.07.2011, инструкции по применению препаратов, размещенные в Справочнике Видаль 2011 «Лекарственные препараты России», на сайтах www.rlsnet.ru, www.insulin-info.ru, www.pilulja.ru, www.piluli.ru, www.ros-med.info, www.lib-med.ru, www.sanofi-aventis.ru

димого вещества, но также фрагменты клеток-продуцентов и множество других белков, которые могут быть очень похожи с молекулой активного компонента и, соответственно, трудно распознаваемы доступными методами анализа [19]. Минимальные нарушения технологии на этапе выделения и очистки, равно как и отсутствие надлежащей системы контроля качества, могут повлечь превышение содержания примесей. Даже сам процесс очистки, а также взаимодействие со вспомогательными субстанциями (например, стабилизатором) могут повреждать и непредсказуемо изменять свойства достаточно нестабильной молекулы белка [19].

Мы провели сравнительный анализ фармакокинетических (ФК) характеристик препаратов рекомбинантного инсулина человека короткого действия и средней длительности действия (табл. 3 и 4, соответственно), указанных в официальных инструкциях по их применению. Оказалось, что препараты различных производителей с **одинаковым Международным Непатентованным Наименованием (МНН)**, имеют колоссальные отличия по времени начала действия, пику и продолжительности действия, а также составу дополнительных ингредиентов. Совершенно очевидно, что эти отличия просто не могут не оказывать влияния на биологические свойства препаратов

Таблица 5

Потенциальные факторы развития иммуногенных реакций	
Факторы, связанные с пациентом	Факторы, связанные с препаратом
Генетическая предрасположенность к аутоиммунной реакции	Присутствие эндогенных или экзогенных эпитопов
Сопутствующие аутоиммунные заболевания	Влияние антигенных участков связывания
Доза и длительность лечения	Степень гликозилирования
Способ введения	Технология производства и выделения целевого продукта
	Растворимость
	Приготовление и хранение

и клиническую эффективность терапии. Следовательно, автоматическая замена ЛС в пределах группы МНН невозможна.

Иммуногенность

Иммуногенность является одной из наиболее серьезных проблем безопасности терапии биосимилярами [22].

Развитие иммунных реакций – сложный процесс, обусловленный множеством факторов, связанных как с самим препаратом, так и с особенностями иммунного и антигенного статуса пациента (табл. 5). В настоящее время известны два основных варианта индукции иммунного ответа на биопрепараты: 1) структурная трансформация белка действующего вещества; 2) наличие примесей, например фрагментов клеток-продуцентов или продуктов реакции с вспомогательными веществами. Последствия иммунной реакции также могут варьировать: от клинически незначимых, например, выработки антител (АТ), которые не оказывают влияния на эффективность терапии и выраженность побочных эффектов, до серьезных нежелательных реакций, когда АТ нейтрализуют белок действующего вещества вплоть до полной потери биологической активности.

Наиболее ярким примером драматических последствий изменения иммуногенных свойств может служить резкое повышение частоты развития полной красноклеточной анемии (ПККА), связанное с заменой стабилизатора в оригинальном препарате Эпрекс [23]. В 1998 году в связи с риском «эпидемии коровьего бешенства» в Европе, в препарате, который производился за пределами США, человеческий сывороточный альбумин был заменен смесью полисорбата-80 и глицина. В последующие 4 года использования модифицированной формы Эпрекса ПККА развилась у 250 человек, в то время как до 1998 г. были известны только 3 случая развития заболевания. ПККА является смертельно опасной формой анемии, обусловленной полной блокадой эритропоэза вследствие образования АТ как к экзогенному, так и собственному ЭПО – у пациентов развивается абсолютная зависимость от гемотрансфузий. В качестве основных возможных причин случившегося называют несколько: 1) мицелирование – образование ЭПО-содержащих мицеллоподобных структур, напоминавших по строению чужеродные антигены, спровоцированное заменой стабилизатора; 2) денатурация или агрегация белка, связанная с меньшей стабильностью молекулы в новых условиях; 3) взаимодействие стабилизатора с материалами пробки предварительно заполненных шприцов с образованием примесей, которые могли сыграть роль адъювантов иммунного ответа; 4) подкожный путь введения (при котором отмечалось большинство зарегистрированных случаев ПККА) [24]. Однако, несмотря на иницированные компанией исследования, точный механизм повышения иммуногенности препарата так и остался неясен.

Этот пример позволяет сделать ряд крайне важных выводов:

- любые минимальные изменения технологии производства могут повлечь за собой клинически значимые изменения свойств даже оригинального биопрепарата;

- какие именно эффекты *in vivo* может вызвать изменение технологии производства – невозможно предсказать;
- полная идентичность действующего белка не гарантирует идентичности эффектов ЛС;
- иммуногенные свойства препарата могут проявиться именно при длительном применении.

Мнение международных экспертов в отношении воспроизведенных биопрепаратов единодушно: вследствие невозможности точного воспроизведения технологии биосимиляры не могут быть точной копией оригинального препарата и проявляют значительные отличия в структуре молекулы, биологической активности, эффективности и иммуногенности [3, 10–13, 19–22].

Сравнительные исследования оригинальных биопрепаратов и биосимиляров

Проведенные к настоящему времени исследования убедительно доказали существенные различия в структуре, эффективности и безопасности между оригинальными и воспроизведенными биологическими препаратами практически всех основных групп [25–31].

Это опыт компании Марвел, заявка которой на регистрацию трех лекарственных форм инсулина человека (короткого, длительного действия и готовой смеси 30/70) была отклонена ЕМА в 2007 г. вследствие недостаточных данных по иммуногенности, контролю технологического процесса, анализа на содержание примесей и других аспектов качества, а также выявленных при проверке клинически значимых отличиях эффективности (по уровню HbA_{1c}) и фармакодинамических свойств (в частности, более быстрой абсорбции и элиминации биосимиляра короткого действия) по сравнению с референсным препаратом [25–27].

При анализе биосимиляров ГР во всех пяти изученных в данном исследовании образцах была обнаружена изоформа гормона с тиозфирной связью Cys182-Cys189, которая не выявлялась в оригинальном препарате. Наличие данной изоформы приводит к нарушению взаимодействия гормона с рецептором и снижению его биологической активности. Эта изоформа образуется при определенных условиях (высоких значениях pH и температуры), что может свидетельствовать о грубых нарушениях технологического процесса [28].

Неэквивалентность биосимиляров ЭПО продемонстрирована проведенным в США анализом, включившем 47 препаратов, производимых различными фармацевтическими компаниями в 16 странах мира, в т. ч. в России [29]. Исследования проводились в трех независимых лабораториях. Было установлено, что и химический состав, и биологическая активность многих образцов отличались от оригинального референсного препарата. Так, у 21 из 47 изученных образцов выявлено несоответствие по pH и осмолярности, в 35 – дополнительные щелочные изоформы, в 8 – превышение нормы содержания ЭПО, в 29 – количества агрегатов пептида и у 15 образцов – изменение профиля активности. Особого внимания заслуживают данные о наличии в 2 препаратах эндотоксина. Другие исследования подтверждают, что биологическая активность ЭПО различных производителей может варьировать от 70% до 200% по сравнению с установленным стандартом [30]. В исследовании, проведенном в Таиланде, были изучены образцы крови и костного мозга у 30 пациентов, получавших биосимиляры ЭПО по поводу нефрогенной анемии, у которых отмечалось резкое падение эффективности терапии – снижение уровня гемоглобина в среднем до 56 г/л. Анализ показал наличие АТ к ЭПО и красноклеточную аплазию костного мозга (содержание эритробластов <5%) в 23 из 30 изученных образцов [31]. Эти данные, безусловно, требуют подтверждения в контролируемых исследованиях. Однако, следует отметить, что, вслед-

стве отсутствия закона о биосимилярах, Таиланд оказался очень удобным рынком для производителей воспроизведенных ЛС. В период до 2009 г. в Таиланде по упрощенной процедуре регистрации дженериков лицензированы и допущены к применению 14 биосимиляров ЭПО, итогом чего стало значимое повышение частоты развития различных побочных эффектов, в том числе ПЖКА [31]. Подобная участь может постигнуть и другие страны с отсутствием соответствующих законодательных норм, в том числе Россию.

Сложившаяся ситуация требует пересмотра позиций в отношении стандартов контроля качества биосимиляров и регуляторных норм их допуска к клиническому применению.

Регуляторные нормы регистрации биосимиляров

Европейское агентство по лекарственным средствам (European Medicines Agency, ЕМА) является мировым лидером в области нормативно-правовой базы по регулированию производства и регистрации биосимиляров. В США соответствующие законодательные акты пока находятся в стадии разработки [32].

С начала 2000 г. ЕМА разработало ряд законодательных документов, регулирующих применение биотехнологических препаратов: Директива 2003/63/ЕС [6], дополнившая Европейский фармацевтический кодекс (Директиву 2001/83/ЕС) [7], Директива 2004/27/ЕС [33], Руководство по подобным биологическим лекарственным продуктам 2005 г. (Guideline on Similar Biological Medicinal Products, ЕМА/СНМР/437/04) [34], в которых сформулирована концепция биосимиляров и содержатся основные общие положения по регулированию их обращения. Позднее были выпущены отдельные руководства, содержащие требования к проведению доклинических и клинических исследований биосимиляров (2006 г.) [35], анализу качества (2006 г.) [36], оценке иммуногенности (2007 г.) [37], а также ряд приложений, уточняющих требования к исследованиям и регистрации биосимиляров основных групп биотехнологических ЛС: ЭПО [38]; ГР [39]; инсулина [40]; ГКСФ [41], НМГ [42].

Регуляторные директивы ЕМА отражают тот факт, что биосимиляры не являются «идентичной копией» биотехнологических ЛС. Соответственно, требования к их регистрации должны приравниваться к требованиям к оригинальным ЛС и включать полный пакет документов: характеристику свойств и состава препарата, производственного процесса, методов контроля, и, самое главное, результаты клинических исследований эффективности и безопасности терапии.

Так, Директива ЕМА 2004/27/ЕС, ст. 10 (ч. 4) [33] гласит: «Если ... субстанция или процесс производства «подобного биологического лекарственного продукта» отличаются от таковых у биологического оригинального ЛС, то должны быть представлены результаты собственных доклинических и клинических исследований».

Вид и объем доклинических и клинических исследований зависят от результатов сравнения качества препаратов и доказательств их аналогичности [36]. Препараты могут считаться аналогичными, если по своим существенным физико-химическим и биологическим свойствам, а также профилю побочных субстанций «в высокой степени соответствуют друг другу», а именно: в пределах варибельности серий разрешенного к применению оригинального продукта. В том случае, если аналогичность воспроизведенного и оригинального препаратов подтверждается, может быть рекомендована программа ограниченных доклинических и клинических исследований.

Европейские нормативные требования к регистрации биосимиляров инсулина [40]

Как и в случае остальных «подобных биологических лекарственных продуктов», для регистрации биосимиляров инсулина

требуется проведение оценки эквивалентности как лекарственной субстанции, так и лекарственного продукта с использованием адекватных качественных и количественных методов анализа на примеси и сопоставление профиля примесей с характеристиками определенных эталонных препаратов.

В число обязательных доклинических тестов входят фармакодинамические исследования *in vitro*, биоанализ аффинности *in vitro*, анализ содержания инсулина и связывания с рецепторами инсулиноподобного фактора роста (ИПФР-1), а также влияния на пролиферацию клеток, исследование активности на биологических моделях и токсикологические исследования с применением многократных доз (на животных соответствующего вида).

Обязательные к проведению клинические исследования:

1. оценка фармакокинетики (ФК) — как минимум одно однократное перекрестное исследование с использованием подкожного пути введения, предпочтительно у пациентов с сахарным диабетом 1 типа;
2. оценка фармакодинамики (ФД) — имеет наибольшее значение для подтверждения эквивалентности инсулинов. Обязательным является проведение двойного слепого перекрестного исследования с использованием гиперинсулинемического эу-гликемического клэмп, позволяющее продемонстрировать профиль гипогликемического ответа по соотношению «время-эффект». При этом необходимо предоставление информации о скорости инфузии глюкозы и концентрации инсулина, а также обоснование выбора популяции;
3. оценка эффективности — сравнительное двойное слепое исследование продолжительностью 6–12 месяцев;
4. оценка иммуногенности продукта — исследование в течение 12 месяцев, которое должно включать сравнительную фазу продолжительностью не менее 6 месяцев.

Фармаконадзор

В связи с ограниченностью сроков и популяции клинических исследований ряд нежелательных эффектов, в том числе иммуногенность препарата, могут быть не выявлены до регистрации препарата.

Поэтому для всех биосимиляров должен предоставляться план управления рисками — программа долгосрочного контроля безопасности терапии, направленная на выявление всех клинически значимых признаков иммуногенности и других нежелательных эффектов после регистрации препарата [35].

Сбор данных по безопасности после выпуска препарата на рынок возможен только при условии четкой системы государственного фармаконадзора. При этом для адекватного учета информации по нежелательным эффектам необходимо использование не МНН, а именно торгового названия препарата, что позволит четко дифференцировать биосимиляры и оригинальные ЛС.

Законодательное регулирование обращения ЛС в России

Нормативно-правовое регулирование обращения любых ЛС в РФ отнесено к компетенции Минздравсоцразвития России. Основной процедурой допуска ЛС к медицинскому применению является процедура его регистрации с предшествующей предрегистрационной экспертизой качества, эффективности и безопасности ЛС. Мониторинг безопасности ЛС осуществляет Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития и ее территориальные управления по субъектам РФ [43].

Специализированных нормативно-правовых актов, регламентирующих процедуру регистрации биосимиляров, в РФ нет.

Замещение

Термин «замещение» относится к области национальной политики и отражает возможность заменять ЛС, назначенное

врачом, другим препаратом, если этот препарат считается равноценным по качеству, безопасности и эффективности. В случае биопрепаратов «автоматическое» замещение недопустимо, поскольку может повлечь клинически значимые последствия для здоровья пациента [10].

В инструкцию по применению биосимиляров целесообразно внести указание: "Является воспроизведенным биологическим ЛС. Отпуск в аптечном учреждении в качестве замены оригинального препарата без согласования с врачом запрещен".

«Цена вопроса»

Более низкая стоимость воспроизведенных ЛС позволяет им успешно конкурировать на рынке с производителями оригинальных брендов.

По подсчетам Европейской Ассоциации Производителей Дженириков, 20% снижение стоимости на воспроизведенные версии 6 биологических препаратов, срок патентной защиты которых закончится в ближайшее время, позволит ЕС сэкономить более 1,6 млрд евро [44]. В основе такой «успешной» политики ценообразования находится именно стратегия экономии на проведении доклинических и клинических исследований.

Однако в случае биопрепаратов реальная экономическая выгода может быть не столь значительной. Принимая во внимание необходимость проведения исследований биозквивалентности и долгосрочных затратных программ управления рисками, неизвестно, будут ли расходы на разработку и внедрение биосимиляров ниже расходов на оригинальные бренды. В любом случае, при решении вопроса о лечении воспроизведенными ЛС приоритетными должны быть отнюдь не экономические аспекты.

Результаты проведенных исследований доказывают, что **биосимиляры не эквивалентны оригинальным препаратам и, по сути, представляют собой иные биотехнологические продукты**. Эти различия влекут за собой очень серьезные последствия, как в плане клинической эффективности, так и безопасности терапии. Таким образом, не прямые расходы, связанные с терапевтической неэквивалентностью биосимиляров, могут значимо пре-

высить потенциальную экономию средств и с экономической, и социальной точки зрения.

Заключение

Вследствие сложности структуры биологических продуктов и невозможности точного воспроизведения технологии, биосимиляры а priori не могут быть идентичной копией оригинального препарата. Зависимость биотехнологического производства от живых клеток, функции которых неизбежно варьируют, а также наличие примесей могут значимо изменять свойства биопрепаратов разных производителей, в том числе в отношении таких важных аспектов, как клиническая эффективность и иммуногенность. При этом доступные методы анализа не гарантируют выявления существующих между биосимиляром и оригинальным препаратом отличий.

Эти и другие особенности диктуют необходимость выработки четкого дифференцированного подхода к одобрению биосимиляров к клиническому применению. Допуск биосимиляров в обращение должен проводиться на основе объективной оценки соответствия оригинальному препарату по качеству, эффективности, безопасности и иммуногенности. Нормативно-правовые требования к регистрации биосимиляров должны быть аналогичны требованиям к оригинальным биологическим препаратам и обязательно включать данные собственных доклинических и клинических исследований, а также долгосрочный план управления рисками уже после выхода препарата на рынок. При осуществлении фармаконадзора необходимо использовать не МНН, а именно торгового названия ЛС. «Автоматическое» замещение биопрепаратов на их биосимиляры недопустимо, поскольку может повлечь клинически значимые последствия для здоровья пациента.

С точки зрения врача, возможность взаимозаменяемости ЛС определяется созданием четкой системы контроля качества и регистрации ЛС, препятствующей допуску на рынок некачественных и неэффективных препаратов.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов, связанных с рукописью.

Литература

- Walsh G. Biopharmaceutical benchmarks 2006 // Nature Biotechnol. – 2006. – № 24. – P. 769–776. doi:10.1038/nbt0706-769.
- Report medicines in development – Biotechnology // PhRMA. – 2006. <http://www.phrma.org/files/Biotech202006.pdf>.
- McCamish M., Woollett G. Worldwide experience with biosimilar development // MAbs. – № 3 (2). – С. 209–17.
- Биотехнология. Принципы и применение. Под ред. И. Хиггинса и др. / Пер. с англ. – М., 1988.
- Федеральный закон №61 от 12 апреля 2010 г. «Об обращении лекарственных средств».
- 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. – P. 46–94 (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:159:0046:0094:EN:PDF>).
- The European Parliament and the Council of the European Union (2001) Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use // In Official Journal of the European Union. – L311. – P. 67–128 (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2001:311:0067:0128:EN:PDF>).
- Buehler G.J., Conner D. The FDA Process for Approving Generic Drugs. FDA Office of Generic Drugs. <http://www.connective.com/events/genericdrugs/2006>.
- Questions and answers on generic medicines. EMEA document. EMEA/393905/2006. London, UK: European Medicines Agency. – 2007. Available from: www.emea.europa.eu/pdfs/human/pcwp/39390506en.pdf [Last accessed 30 January 2010].
- Azevedo V.F. Are we prepared to prescribe biosimilars? // Bras J. Rheumatol. – 2010. – № 50 (3). – P. 221–224.
- Kresse G-B. Biosimilars – Science, status, and strategic perspective // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2009. – № 72 (3). – P. 479–86.
- Kuhlmann M., Covic A. The protein science of biosimilars // Nephrol Dial Transplant. – 2006. – № 21 (Suppl 5). – v4–v8. doi:10.1093/ndt/gfl474.
- Misra A. Are biosimilars really generics? // Expert Opin. Biol. Ther. – 2010. – № 10(4). – P. 489–494.
- Jenkins N., Murphy L., Tyther R. Post-translational modifications of recombinant proteins: significance for biopharmaceuticals // Mol. Biotechnol. – 2008. – № 39. – P. 113–118.
- Kozlowski S., Swann P. Current and future issues in the manufacturing and development of monoclonal antibodies // Adv. Drug Del. Rev. – 2006. – № 58. – P. 707–722.
- Misaizu T, Matsuki S, Strickland TW et al. Role of antennary structure of N-linked sugar chains in renal handling of recombinant human erythropoietin // Blood. – 1995. – № 86. – P. 4097–4104.
- Hepner F., Czarar E., Roitinger E., Lubec G. Mass spectrometric analysis of recombinant human growth hormone (Genotropin) reveals amino acid substitutions in 2% of the expressed protein // Proteome Sci. – 2005. – № 3. – P. 1–12.
- Walsh G. Therapeutic insulins and their large-scale manufacture // Appl Microbiol Biotechnol. – 2005. – № 67. – P. 151–159.
- Home P. Biosimilar insulins // Diabetes Voice 2011. – № 56 (2). – P. 41–43.
- Schellekens H. Biosimilar therapeutics-what do we need to consider? // NDT Plus. – 2009. – № 2(Suppl 1). – i27–i36. doi: 10.1093/ndtplus/sfn177.
- Kuhlmann M., Marre M. Lessons learned from biosimilar epoetins and insulins // Br J. Diabetes Vasc Dis. – 2010. – № 10. – P. 90–97.
- Roger S.D. and Ashraf M. Biosimilars: Opportunity or Cause for Concern? // J. Pharm. Pharmaceut. Sci. – 2007. – № 10 (3). – P. 405–410. www.cspCanada.org.

23. Casadevall N., Nataf J., Viron B. et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin // *N. Engl. J. Med.* – 2002; 346: 469–475.
24. Sharma B., Bader F., Templeman T. et al. Technical investigations into the cause of the increased incidence of antibody-mediated pure red cell aplasia associated with Eprex // *Eur. J. Hospital Pharm.* – 2004; 5:86–91.
25. European Medicines Agency Withdrawal Assessment Report for Insulin Human 30/70 Mix Marvel. – 2008. <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/insulinhumanrapidmarvel/701790en.pdf>. Accessed 12 May 2010.
26. European Medicines Agency Withdrawal Assessment Report for Insulin Human Rapid Marvel. – 2007. <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/insulinhumanrapidmarvel/31777807en.pdf>. Accessed 12 May 2010.
27. European Medicines Agency Withdrawal Assessment Report for Insulin Human Long Marvel. – 2008. <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/insulinhumanrapidmarvel/7034908en.pdf>. Accessed 12 May 2010.
28. Lispi M., Datola A., Bierau H. et al. Heterogeneity of commercial recombinant human growth hormone (r-hGH) preparations containing a thioether variant // *Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2009; 98(12): 4511–4524. DOI: 10.1002/jps.21774
29. Singh A.K. Biosimilar epoetins: potential for variation reinforces need for regulation // *Nephrology Times.* – 2008; 1 (4): P. 2–14.
30. Schellekens H. Biosimilar epoetins: how similar are they? // *Eur. J. Hosp. Pharm.* – 2004; 3:8–12.
31. 15. raditpornsilpa K., Tiranathanagul K., Kupatawintu P. Et al. Biosimilar recombinant human erythropoietin induces the production of neutralizing antibodies // *Kidney International.* – 2011; 80: P. 88–92; doi:10.1038/ki.2011.68.
32. US Food and Drug Administration. www.fda.org. Accessed 02 September 2010.
33. The European Parliament and the Council of the European Union (2004) Directive 2004/27/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/83/EC on the Community code relating to medicinal products for human use // *In Official Journal of the European Union*, L136, pp. 34–57 (<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:136:0034:0057:EN:PDF>).
34. European Medicines Agency. Guideline on Similar Biological Medicinal Products, CPMP/437/04, October 2005. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/043704en Accessed 29 April 2010.
35. European Medicines Agency. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Drug Substance – Non Clinical and Clinical Issues, EMEA/CHMP/BMWP/42832/05, February 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/4283205en Accessed 02 September 2010.
36. European Medicines Agency. Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Active Substance: Quality Issues, CHMP/49348/05, February 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/4934805en Accessed 02 September 2010.
37. European Medicines Agency. Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins. EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006, December 2007. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003946.pdf. Accessed 02 September 2010.
38. European Medicines Agency. Annex Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-derived Proteins as Drug Substance – Non Clinical and Clinical Issues containing Recombinant Human Erythropoietin, CHMP/94526/05, March 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/9452605en. Accessed 02 September 2010.
39. European Medicines Agency. Annex Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology derived Proteins as Drug Substance – Non Clinical and Clinical Issues containing Recombinant Human Growth Hormone, CHMP/94528/05, February 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/9452805en Accessed 02 September 2010.
40. European Medicines Agency. Annex Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology derived Proteins as Drug Substance – Non Clinical and Clinical Issues. Guidance on Similar Medicinal Products Containing Recombinant Human Insulin CHMP/BMWP/32775/05, February 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/3277505en. Accessed 02 September 2010.
41. European Medicines Agency. Annex Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology derived Proteins as Drug Substance –Non Clinical and Clinical Issues containing Recombinant Granulocyte Colony-Stimulating Factor, CHMP/31329/05, February 2006. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/3132905en Accessed 02 September 2010.
42. European Medicines Agency. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Low-molecular Weight Heparins. Draft released for consultation in April 2008. www.ema.europa.eu/pdfs/human/biosimilar/11826407en Accessed 02 September 2010.
43. Юргель Н.В. Система надзора и контроля в сфере обращения лекарственных средств в Российской Федерации // *Вестник Росздравнадзора* 2008, №6, С. 4–11.
44. European Generic Medicines Association. Biosimilar medicines: FAQ. Available at: http://198.170.119.137/doc/FAQ_biosimilars.pdf. Accessed 03 May 2010.

Шестакова Марина Владимировна
Викуллова Ольга Константиновна

член-корр. РАМН, директор Института диабета, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
к.м.н., в.н.с. отделения диабетической нефропатии и гемодиализа, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
E-mail: olga-vikulova-1973@yandex.ru