

## **Различные фармакокинетические и фармакодинамические свойства рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ), полученного из линии клеток человека, по сравнению с рФСГ из линии клеток других видов**

Хокан Олссон, PhD, Рикард Сандстрем, PhD, и Ларс Грюндемар, MD, PhD

### **Резюме**

Фармакокинетические и фармакодинамические свойства нового препарата рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) (FE 999049), экспрессируемого линией клеток человека (PER.C6), сравнивали с препаратом рФСГ (фоллитропин  $\alpha$ ), экспрессируемым в яичниках китайского хомяка (ЯКХ) у здоровых женщин с подавленной функцией гипофиза. После однократного внутривенного введения 225 МЕ (анализ Стилмана – Поли) клиренс был ниже, 0,31 против 0,44 л / ч, для FE 999049, чем для фоллитропина  $\alpha$ . Аналогичным образом, клиренс после многократных ежедневных подкожных введений был ниже, 0,58 против 0,99 л / ч, а AUC и C<sub>max</sub> выше, в 1,7 и 1,6 раза. Абсолютная биодоступность после однократного подкожного введения дозы 450 МЕ была одинаковой для обоих препаратов - 60–65%. После многократного подкожного введения период полувыведения FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  составлял приблизительно 30 и 24 часа. Ответы яичников в отношении количества фолликулов и концентрации ингибина В и эстрадиола в сыворотке были выше при введении FE 999049, чем фоллитропина  $\alpha$ , AUC и C<sub>max</sub> для двух последних были более чем в 1,6 раза выше для FE 999049, чем для фоллитропина  $\alpha$ . Эти результаты показывают, что введение равных доз FE 999049, экспрессированного в линии клеток человека, и фоллитропина  $\alpha$ , экспрессированного в линии клеток ЯКХ, у людей проявляет различные фармакокинетические и фармакодинамические свойства.

### **Ключевые слова**

рекомбинантный ФСГ, линия клеток человека, фармакокинетика, фармакодинамика, биодоступность

Отделение экспериментальной медицины, «Ферринг Фармасьютикалс А/С», Копенгаген, Дания

Представлено для публикации 2 марта 2014 г.; Отредактировано 30 апреля 2014 г.; Принято 30 апреля 2014 г. Автор для ведения переписки: Хокан Олссон, «Ферринг Фармасьютикалс А/С», Кей Фискерс Пладс 11, ДК-2100 Копенгаген, Дания Электронная почта: [hakan.olsson@ferring.com](mailto:hakan.olsson@ferring.com)

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) вырабатывается в передней доле гипофиза и является ключевым гормоном как мужской, так и женской репродуктивной функции. У женщин он стимулирует рост и созревание фолликулов в яичниках<sup>1</sup>, а у мужчин способствует сперматогенезу<sup>2</sup>. Синтез и высвобождение ФСГ в основном контролируются секрецией гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) из гипоталамуса. Информация о дальнейшей судьбе ФСГ ограничена, но данные на животных показывают, что помимо яичников, ФСГ распределяется главным образом в почках и печени,<sup>3,4</sup> и преимущественно выводится почками.<sup>4-6</sup>

ФСГ представляет собой гликопротеин, состоящий из 2 нековалентно связанных полипептидных цепей, обозначенных  $\alpha$  и  $\beta$ . Субъединица  $\alpha$ , которая является общей для гипофизарного ФСГ, лютеинизирующего гормона гипофиза (ЛГ), тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) и хорионического гонадотропина плаценты (ХГЧ), содержит 92 аминокислотных остатка с 5 интрадисульфидными связями. Структурно отличающаяся субъединица  $\beta$ , уникальная для ФСГ, содержит 111 аминокислотных остатков с 6 внутридисульфидными связями. Обе субъединицы ФСГ N-гликозилированы в 2 положениях, углеводы составляют почти одну треть от общей массы, что приводит к многочисленным изоформам молекулы со значительными вариациями в размере и структуре углеводных цепей, а также уровне сиалирования.<sup>7,8</sup> Было продемонстрировано, что состав углеводных фрагментов оказывает значительное воздействие на активность ФСГ *in vivo*, влияя на клиренс, свойства связывания с рецептором ФСГ в органах-мишенях и его способность активировать рецепторы. Как правило, менее кислые изоформы имеют более высокий клиренс,<sup>9-11</sup> в то время как биологическая активность *in vitro* и *in vivo* обычно повышается по сравнению с изоформами с большим количеством остатков сиаловой кислоты<sup>9,12-15</sup>.

Рекомбинантный ФСГ (рФСГ) широко используется в лечении бесплодия с момента его появления в середине 1990-х годов. На сегодняшний день доступные препараты рФСГ, используемые для контролируемой стимуляции яичников у женщин, подвергающихся циклам экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) или интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИЦИС), то есть фоллитропин  $\alpha$  и фоллитропин  $\beta$ , экспрессируются в клетках яичников китайского хомяка (ЯКХ).<sup>16</sup> Недавно в клиническую разработку вошел новый рФСГ (FE 999049), полученный из линии клеток сетчатки плода человека (PER. C6). Аминокислотные последовательности  $\alpha$  - и  $\beta$ -субъединиц FE 999049 при клиническом использовании идентичны последовательности естественного человеческого ФСГ и существующих продуктов рФСГ, полученных из ЯКХ, в то время как содержание сиаловой кислоты в FE 999049 выше при  $\alpha$  2,3 и  $\alpha$ 2,6 сиалировании и, таким образом, более похоже на естественный человеческий ФСГ, чем продукты из клеточных линий ЯКХ только с  $\alpha$ 2,3 сиалированием.<sup>17</sup>

В этом отчете представлены результаты двух клинических исследований, сравнивающих фармакокинетические и фармакодинамические свойства FE 999049, полученного из линии клеток человека и фоллитропин  $\alpha$ , полученный из линии клеток ЯКХ, у здоровых женщин репродуктивного возраста. Поскольку FE 999049 является первым рФСГ, полученным из линии клеток человека, было проведено исследование однократной внутривенной (в/в) и подкожной (п/к) дозы, чтобы установить истинные внутренние фармакокинетические свойства, то есть клиренс, объем распределения и биодоступность, в то время как изучение повторного введения п/к было предпринято для сравнения фармакокинетических и фармакодинамических свойств в более клинически соответствующих условиях.

## Методы

### Дизайн исследования

Каждый протокол исследования и документ об информированном согласии были рассмотрены и одобрены Независимым исследовательским советом, Инк., Плантейшн, Флорида, США. Исследования проводились в соответствии с Хельсинкской декларацией и принципами надлежащей клинической практики в Институте клинической фармакологии Майами, Флорида, США. Предварительное письменное информированное согласие было получено от всех субъектов.

Фармакокинетика разовой дозы и абсолютная биодоступность оценивались в открытом рандомизированном перекрестном исследовании с параллельными группами у здоровых женщин с подавленным высвобождением эндогенного ФСГ. Подкожные введения FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  выполнялись с использованием различных устройств, и, поскольку первичные конечные точки были основаны на объективных измерениях концентрации ФСГ в плазме, двойные фиктивные условия для заклеивания считались неоправданными. Субъекты, соответствующие критериям отбора, начали прием вводного курса комбинированного перорального контрацептива в высоких дозах (ОГЕСТРЕЛ 0,5 / 50, «Уотсон Фарма Инк.», Морристаун, Нью-Джерси, США) за 14 дней до введения рФСГ без периода отсутствия гормонов до перехода с обычного противозачаточного средства. Затем в течение всего исследования продолжали ежедневный прием комбинированного перорального контрацептива. Уровень ФСГ измеряли перед введением рФСГ, и он должен был составлять  $<5$  МЕ / л, чтобы субъект имел право на участие.

В день введения рФСГ каждый субъект был рандомизирован в соответствии со сгенерированным компьютером списком рандомизации с размером блока 10, предоставленным независимым статистиком, для получения внутривенной дозы, вводимой в виде медленной инъекции в течение 1-2 минут, либо 225 МЕ FE 999049, либо 225 МЕ фоллитропина  $\alpha$ . Образцы крови для фармакокинетического анализа отбирали перед введением дозы и затем через 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48 часов и через 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 9 дней после введения.

Фармакокинетическое и фармакодинамическое исследование повторных доз являлось двойным слепым рандомизированным исследованием в параллельных группах у здоровых женщин. Эндогенное высвобождение ФСГ подавлялось 1-месячным препаратом-депо агониста ГнРГ (ЛЮПРОН ДЕПО, «Эбботт Лаборатрис», Норт Чикаго, Иллинойс, США), который вводили за 28 и 14 дней до первого введения FE 999049 / фоллитропина  $\alpha$ . Чтобы подтвердить подавление ФСГ и эстрадиола, анализировали их сывороточные уровни перед первым введением рФСГ, и они должны были составлять  $<5$  МЕ / л и 50 пг / мл соответственно, чтобы субъект имел право на участие. Перекрестный дизайн не считался оправданным из-за длительной необходимости постоянного подавления агонистом ГнРГ у здоровых женщин.

В первый день введения рФСГ субъекты были рандомизированы согласно сгенерированному компьютером списку рандомизации с размером блока 4, предоставленным независимым статистиком, для получения либо FE 999049, либо фоллитропина  $\alpha$ . Субъектам ежедневно вводили подкожно 225 МЕ FE 999049 или 225 МЕ фоллитропина  $\alpha$  в течение 7 дней, каждый раз в разных местах брюшной полости и сразу же отбирали образцы крови для фармакокинетической (ФСГ) и фармакодинамической (ингибин В и эстрадиол) оценки. После последнего введения на 7 день образцы крови для фармакокинетического и фармакодинамического анализа собирали через 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 и 48 часов после введения, а затем ежедневно до 9 дней после приема.

### **Субъекты**

Здоровые женщины в возрасте 21–35 лет были включены в исследование фармакокинетики и биодоступности разовой дозы. Основными критериями включения были индекс массы тела (ИМТ) от 18 до 29 кг / м<sup>2</sup>, менструальный цикл от 24 до 35 дней и использование комбинированных пероральных контрацептивов в течение не менее 3 месяцев до скрининга. Те же основные критерии включения применялись для фармакокинетических и фармакодинамических исследований многократного введения, за исключением того, что в

них могли участвовать женщины в возрасте 21–39 лет. Слегка расширенный возрастной диапазон охватывал возможную фармакодинамическую изменчивость вследствие возраста в целевой популяции пациентов.

### **Источники и анализ FE 999049 и фоллитропина $\alpha$**

Все ссылки на активность ФСГ (МЕ) основаны на методе Стилмана и Поли.<sup>18</sup> FE 999049 был получен в клеточной линии сетчатки плода человека (PER. С6) и предоставлен в виде стерильного раствора с фосфатным буфером, pH 6–7. Концентрация активного ингредиента составляла 600 МЕ / мл активного ФСГ, который использовали неразбавленным для подкожного введения и разбавляли физиологическим раствором для в / в инъекции. Коммерческую упаковку многодозовой ручки с фоллитропином  $\alpha$  (ГОНАЛ-Ф, «ЕМД Сероно, Инк.», Рокленд, Массачусетс, США) с указанным содержанием 600 МЕ / мл фоллитропина  $\alpha$  использовали без разбавления для подкожного введения и разбавляли физиологическим раствором для в / в инъекции при исследовании фармакокинетики и биодоступности однократной дозы. Для фармакокинетических и фармакодинамических исследований многократных доз использовался коммерчески доступный лиофилизированный порошок во флаконах с указанным содержанием 600 МЕ фоллитропина  $\alpha$  вместе с предварительно заполненным шприцем, содержащим 1 мл растворителя.

Анализ сывороточных концентраций ФСГ выполнен отделом биоанализа компании «Ферринг Фармасьютикалс А/С» с помощью утвержденного иммуноанализа, основанного на электрохемилюминесценции (ЭХЛ). Вкратце, 96-луночный микропланшет покрывали мышинным антителом против человеческого ФСГ («АБД Серотек», Оксфорд, Великобритания) оставляли на ночь, после чего образцы переносили с помощью робота для обработки образцов Tecan Genesis Freedom. После добавления мышинового антитела против человеческого ФСГ, меченого MSD-SULFO-TAG, и инкубации в течение 1 часа проявлялся цвет и считывался с помощью MSD Sector Imager 2400. Нижние пределы количественного определения составляли 1,32 мМЕ / мл FE 999049 и 1,02 мМЕ / мл фоллитропина  $\alpha$ , соответственно, как определено в образцах КК. Смещение на всех уровнях находилось в пределах 8%, а смещение для калибровочных образцов с обратным расчетом - в пределах 2%.

### **Фармакодинамические оценки**

Количество и размер фолликулов оценивали с помощью трансвагинального ультразвукового исследования, и гинеколог на месте проводил слепой анализ полученных цифровых изображений. Ингибин В и эстрадиол анализировали в «Эллайд Ресерч Лаборатри» (Майами, Флорида, США) с использованием имеющихся в продаже наборов для иммуноанализа в соответствии с инструкциями производителя. Ингибин В определяли количественно с помощью ELISA Ингибин В Ген II («Бекман Каултер Инк.», Бреа, Калифорния, США), трехступенчатого сэндвич-анализа с ферментативной амплификацией. Нижний предел количественного определения составлял 4,8 пг / мл, верхний предел - 500 пг / мл, эффективность анализа % CV находилась в пределах 3%. Эстрадиол анализировали в системе ADVIA Centaur («Эллайд Ресерч Интернешнл», Майами Гарденс, Флорида, США), которая представляет собой конкурентный иммуноанализ с использованием прямой хемилюминесцентной технологии. Нижний предел количественного определения эстрадиола составлял 10 пг / мл, верхний предел - 1000 пг / мл, CV% эффективности анализа в пределах 1%.

## Статистический анализ

Фармакокинетические параметры рассчитывали для исходных скорректированных данных, предполагая постоянную фоновую концентрацию ФСГ, с помощью некомпартментного анализа (НСА) с использованием программного обеспечения WinNonlin1 Pro («Фарсайт Корпорейшн», Кэри, Северная Каролина, США). Исходное значение представляло собой среднее значений, полученных до первого введения рФСГ. Значения концентрации в сыворотке ниже нижнего предела количественного определения и отсутствующие значения (например, не взят образец крови или значение не получено при анализе) были исключены из НСА. Фактические моменты времени для забора крови использовались при расчетах отдельных параметров, номинальные моменты времени использовались для сводной статистики. Фармакокинетические параметры оценивали на основании измерений от дня 1 до последнего дня фармакокинетической оценки, то есть дня 10 для однократного введения и дня 16 для повторного введения. Фармакокинетические параметры в устойчивом состоянии оценивались в течение одного интервала дозирования для повторного введения, то есть через 24 часа после введения на 7-й день.

Описательная статистика рассчитана для концентраций в плазме и фармакокинетических параметров, и все фармакокинетические параметры сравнивались между FE 999049 и фоллитропин  $\alpha$  для однократного в/в и п/к, и повторных п/к введений с использованием модели ANOVA для log-преобразованных значений. Соотношения фармакокинетических параметров оцениваются с доверительным интервалом 90%. Концентрации эстрадиола и ингибина В в сыворотке обобщали по группам лечения и времени измерения, а оценки AUCt и Cmax сравнивали в разных курсах лечения с использованием модели ANOVA для логарифмически преобразованных значений с 90% доверительным интервалом. Количество и размер фолликулов обобщали по категориям размера, группе лечения и времени оценки и оценивали с помощью описательной статистики. Средние значения сравнивали между FE 999049 и фоллитропином  $\alpha$  и оценивали с помощью теста Вилкоксона. Все статистические анализы выполнены с использованием программного обеспечения SAS версии 9.2 для Windows («САС Инститьют Инк.», Кэри, Северная Каролина, США).

## Результаты

### Субъекты исследования

Пятьдесят здоровых женщин в возрасте от 21 до 35 лет были рандомизированы и получили дозу для исследования фармакокинетики и биодоступности разовой дозы, по 25 в каждой группе лечения. Масса тела варьировала от 49 до 85 кг, ИМТ от 19,3 до 29,4 кг / м<sup>2</sup>. Группы лечения были сопоставимы по демографическим параметрам (Таблица 1), а также по сопутствующему лечению и истории болезни. Сорок восемь из 50 субъектов завершили оба курса лечения, в то время как 2 субъекта в группе лечения фоллитропином  $\alpha$  отозвали свое согласие по личным причинам до завершения исследования.

Для фармакокинетических и фармакодинамических исследований повторных доз 49 здоровых женщин в возрасте от 21 до 39 лет были рандомизированы в исследование после завершения вводной фазы, 24 - для приема FE 999049 и 25 - для приема фоллитропина  $\alpha$ . Масса тела и ИМТ колебались от 46 до 88 кг и от 19,4 до 28,9 кг / м<sup>2</sup> соответственно. Между двумя группами лечения значимых различий в демографических параметрах (таблица 1), истории болезни и сопутствующей терапии не отмечено. Двадцать четыре субъекта в каждой группе лечения завершили исследование, и 1 субъект был преждевременно

исключен по причине инфекции мочевыводящих путей, нежелательного явления, которое было расценено исследователем как не связанное с лечением.

### **Фармакокинетика однократной в/в и п/к дозы**

Среднее общее время изменения концентрации ФСГ в сыворотке после однократного внутривенного введения 225 МЕ FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  показало сходные проявления (Рис. 1А). Концентрация ФСГ в сыворотке снижалась менее быстро после введения FE 999049, чем после введения фоллитропина  $\alpha$ , и через 1 час после введения была выше во все моменты времени. Клиренс для FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  составлял 0,31 и 0,44 л / ч соответственно, и, следовательно, средняя AUC была в 1,4 раза больше для FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$  (Таблица 2). Доверительные интервалы для соотношений показали, что нельзя утверждать, что AUC, AUCt и клиренс аналогичны, в то время как это нельзя исключить для конечного периода полувыведения и объема распределения (Таблица 2).

В соответствии с наблюдениями после в/в введения, п/к введение однократной дозы 450 МЕ двух препаратов рФСГ привело к увеличению экспозиции (AUC) в 1,5 раза, Cmax в 1,3 раза, а также к увеличению периода полувыведения и tmax в 1,2 и 1,3 раза соответственно для FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$  (Рисунок 1А, Таблица 2). Подобное сравнение ANOVA для в/в введения показало, что 90% доверительные интервалы для соотношений указывают на то, что ни один из параметров, возможно, за исключением tmax, не может считаться аналогичным (Таблица 2).

Оценки абсолютной биодоступности после однократного п/к введения 450 МЕ FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  показало приблизительную среднюю биодоступность 60–65% (Таблица 2). Отношение между двумя препаратами рФСГ, 1,06, и 90% доверительный интервал для отношения, [0,93; 1,22], не указывает на разницу в биодоступности.

### **Фармакокинетика повторных п/к доз**

После введения 225 МЕ / день FE 999049 или фоллитропина  $\alpha$  в течение 7 дней минимальная концентрация ФСГ увеличивалась и достигала стабильного уровня через 6–7 дней для обоих препаратов (Рис. 1В). После введения FE 999049 средняя концентрация ФСГ в сыворотке в каждый момент времени была выше, а с течением времени все возрастала по сравнению с концентрацией ФСГ в сыворотке после введения фоллитропина  $\alpha$  и средними значениями AUCt и AUCinf, рассчитанными после введения последней дозы, и была больше для FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$ . Кинетические параметры AUCt, AUCinf и Cmax были значительно выше для FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$ , AUCt и AUCinf, в 1,6 раза ( $P < 0,001$ ) и 1,7 раза ( $P < 0,001$ ) больше, и Cmax в 1,6- раза выше ( $P < 0,001$ ) (Таблица 3). Кажущийся клиренс (т.е. отношение CL/F) был выше у фоллитропина  $\alpha$  по сравнению с FE 999049, среднее арифметическое (СО) составляло 0,99 (0,41) по сравнению с 0,58 (0,13) л / ч ( $P < 0,001$ ), тогда как кажущееся объемное распределение ( $V_z / F$ ) было сопоставимо: 30,4 (13,3) против 24,2 (6,7) л. Кроме того, средний конечный период полураспада был больше для FE 999049, 29,8 (8,1) по сравнению с 24,2 (13,2) часа ( $P < 0,02$ ), тогда как tmax наступило позже, 10,3 (6,6) против 7,3 (5,0) часов, хотя и не статистически значимо, по сравнению с фоллитропином  $\alpha$ .

**Таблица 1.** Обзор демографических характеристик

	Разовая в/в и п/к доза в группе перекрестного введения	Введение повторных доз п/к
--	--	----------------------------

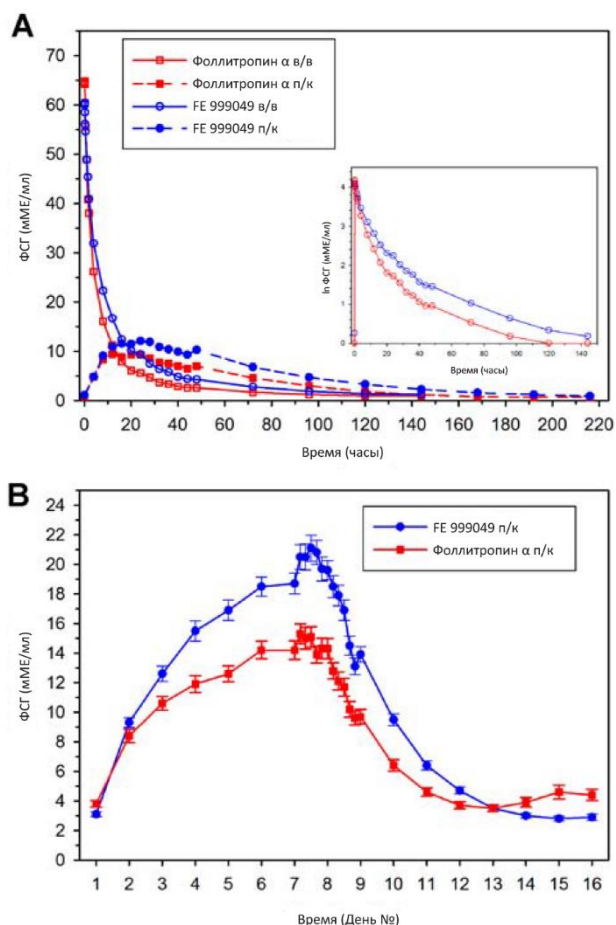
	FE 999049 (N=25)	Фоллитропин $\alpha$ (N=25)	FE 999049 (N=24)	Фоллитропин $\alpha$ (N=25)
Возраст (лет)	27 (4)	29 (4)	31,1 (5,3)	33,4 (5,0)
Вес (кг)	67,5 (9,5)	64,9 (8,5)	71,5 (10,0)	64,7 (11,8)
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> )	25,9 (3,0)	24,9 (3,0)	26,6 (2,4)	25,0 (3,2)
Данные представляют собой среднее арифметическое (стандартное отклонение). ИМТ, индекс массы тела; N, количество субъектов.				

### Фармакодинамика повторных п/к доз

Как количество, так и распределение по размеру растущих фолликулов изменялись в течение 7-дневного периода лечения и после прекращения приема препарата. На протяжении всего периода оценки среднее количество фолликулов во всех категориях размеров, как правило, было выше при введении FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$  (Рисунок 2). Среднее общее количество фолликулов продолжало увеличиваться также после окончания лечения и было значительно выше после лечения FE 999049 на 11-й день (32 против 20,  $P < 0,05$ ) и 15-й день (33 против 19,  $P < 0,05$ ).

Концентрации как ингибина В, так и эстрадиола в сыворотке крови увеличивались вслед за увеличением концентрации ФСГ в сыворотке, однако, с небольшим запаздыванием по времени и в разной степени (Рис. 3). Средняя концентрация ингибина В в сыворотке после введения FE 999049 увеличилась в 90 раз, от средней (СО) 22 (23) пг / мл до максимальной 2,0 (1,8) нг / мл на 7-й день и сохранялась в течение следующих 2 дней, после чего снизилась. Фоллитропин  $\alpha$  вызывал повышение уровня ингибина В, аналогичное общему виду, но с максимальной средней концентрацией 1,3 (0,9) нг / мл на 8-й день, что в 47 раз выше, чем 27 (31) пг / мл. Средняя сывороточная концентрация эстрадиола при введении FE 999049 увеличилась более чем в 70 раз с 24 (12) пг / мл до максимального среднего значения 1,8 (1,7) нг / мл на 10-й день. Фоллитропин  $\alpha$  вызывал повышение эстрадиола аналогичного общего вида, но при более низкой амплитуде, с максимальным средним значением 1,0 (1,0) нг / мл, что в 40 раз больше, чем 25 (17) пг / мл. И ингибин В, и эстрадиол вернулись к исходному уровню через 8–10 дней после последнего приема. АUC и Cmax для ингибина В и эстрадиола были значительно выше ( $P < 0,05$ ) при введении FE 999049 по сравнению с фоллитропином  $\alpha$  (Таблица 3).

**Рисунок 1.** Динамика средних концентраций ФСГ в сыворотке после введения FE 999049 или фоллитропина  $\alpha$  здоровым женщинам. (А) Каждой женщине однократно ввели в/в дозу (225 МЕ) с последующим однократным п/к введением (450 МЕ) в перекрестном дизайне. На вставке показана динамика в представлении lin-log. Планки погрешностей исключены для улучшения читаемости. (В) Каждая женщина получала п/к инъекции (225 МЕ) один раз в день в течение 7 дней подряд. Концентрации в 1–6 дни являются значениями до введения дозы. Столбцы представляют стандартную ошибку.



## Безопасность

И FE 999049, и фоллитропин  $\alpha$  хорошо переносились после п/к и в/в введения. Единственными нежелательными явлениями, возникавшими более одного раза и считавшиеся связанными с лечением после повторных подкожных инъекций были головная боль у 10 (42%) субъектов в группе FE 999049 и у 3 (12%) субъектов в группе фоллитропина  $\alpha$ , дискомфорт в области таза у 3 (13%) субъектов в группе FE 999049, а также отек и приливы у 2 (8%) субъектов в группе фоллитропина  $\alpha$ . Нежелательные явления, которые считались связанными с лечением, были обычно умеренной интенсивности и не приводили к отмене препарата, и клинически значимые результаты клинических лабораторных исследований, показателей жизненно важных функций или ЭКГ не были выявлены.

Два субъекта в группе фоллитропина  $\alpha$  в части, принимавшей однократную дозу, отзывали свое согласие по личным причинам до завершения испытания, один после внутривенного введения и один через 48 часов после подкожного введения. Кроме того, 1 субъект в группе FE 999049 в части с повторной дозой преждевременно выбыл после 4-й дозы вследствие инфекции мочевыводящих путей, нежелательного явления, которое, по мнению исследователя, не связано с лечением.

## Обсуждение

Настоящий отчет является первым, демонстрирующим, что фармакокинетические и фармакодинамические свойства рФСГ, экспрессированного в линии клеток человека, отличаются от свойств рФСГ, экспрессированного в линии клеток ЯКХ, при введении человеку. Постоянно более высокая экспозиция, более длительное время до  $S_{max}$  и более длительное  $t_{1/2}$  FE 999049 после однократного введения и более длительное  $t_{1/2}$  в устойчивом



состоянии после повторных введений по сравнению с фоллитропином  $\alpha$ , указывает на то, что либо абсорбция, либо выведение, либо оба параметра двух продуктов рФСГ в некоторой степени отличаются. Однако, поскольку биодоступность продуктов сравнима, а клиренс фоллитропина  $\alpha$  был аналогичен ранее сообщенным значениям,<sup>19</sup> различия в фармакокинетических параметрах наблюдались после однократного в/в введения, а также повторного п/к введения. Это объясняется значительно более высоким клиренсом фоллитропина  $\alpha$  по сравнению с клиренсом FE 999049. Кроме того, повышенный уровень сialiрования FE 99904917 приводит к более кислым изоформам по сравнению с фоллитропином  $\alpha$ , что, в соответствии с более ранними наблюдениями, показывающими, что изоформы ФСГ с повышенным содержанием сиаловой кислоты связаны со сниженным метаболическим клиренсом,<sup>9-11</sup> что приводит к более высокой экспозиции.

**Таблица 2.** Сравнение фармакокинетических параметров FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  после однократного введения в/в и п/к у здоровых женщин

	Внутривенное введение			Подкожное введение		
	Среднее арифметическое (СО)			Среднее арифметическое (СО)		
	FE 999049 (N=25)	Фоллитропин $\alpha$ (N=25)	ОСГ (90% ДИ)	FE 999049 (N=25)	Фоллитропин $\alpha$ (N=24)	ОСГ (90% ДИ)
AUC (мМЕ * ч/мл)	760 (155)	544 (120)	1,41 (1,26; 1,57)	1064 (312)	691 (214)	1,54 (1,32; 1,81)
AUC <sub>t</sub> (мМЕ * ч/мл)	698 (144)	499 (104)	1,40 (1,26; 1,56)	940 (302)	619 (204)	1,52 (1,29; 1,80)
C <sub>max</sub> (мМЕ /мл)	61,8 (11,0)	66,9 (11,4)	0,92 (0,85; 1,00)	12,5 (4,5)	9,8 (3,3)	1,27 (1,07; 1,51)
t <sub>max</sub> (ч)				23,0 (8,7)	19,3 (8,3)	1,20 (1,00; 1,45)
t <sub>1/2</sub> (ч)	29,6 (12,0)	25,2 (13,2)	1,24 (0,96; 1,61)	48,5 (30,4)	34,5 (7,7)	1,28 (1,06; 1,54)
Клиренс (л/ч)	0,31 (0,07)	0,44 (0,13)	0,71 (0,64; 0,79)			
V <sub>ss</sub> (л)	9,02 (2,34)	10,03 (2,99)	0,91 (0,79; 1,04)			
F (%)				66 (16)	63 (20)	1,06 (0,93; 1,22)

СО, стандартное отклонение; N, количество субъектов. ОСГ указывает отношение среднего геометрического (доверительный интервал 90%). Отношение и доверительные интервалы оцениваются с использованием ANOVA по ln (параметр), включая группу лечения как фиксированный эффект.

Несмотря на то, что некоторые фармакокинетические параметры после введения разовой дозы препаратов рФСГ различаются, абсолютная биодоступность после однократного п/к введения FE 999049 и фоллитропина  $\alpha$  была одинаковой, примерно 60–65%. Это находится в пределах нормального диапазона, о котором сообщалось ранее для рФСГ,<sup>20,21</sup> и хорошо сравнимо с другими терапевтическими белками, вводимыми подкожно<sup>22,23</sup>. Абсорбция после подкожного введения с более поздним t<sub>max</sub> отражает довольно низкую скорость всасывания, предположительно через лимфатические сосуды, как показано для других белков сопоставимого размера.<sup>24,25</sup> Более того, более длительный период полувыведения после подкожного введения по сравнению с в/в введением обоих соединений указывает на

то, что кажущаяся скорость выведения после п/к введения определяется медленной скоростью абсорбции, так называемой инвертированной кинетикой.

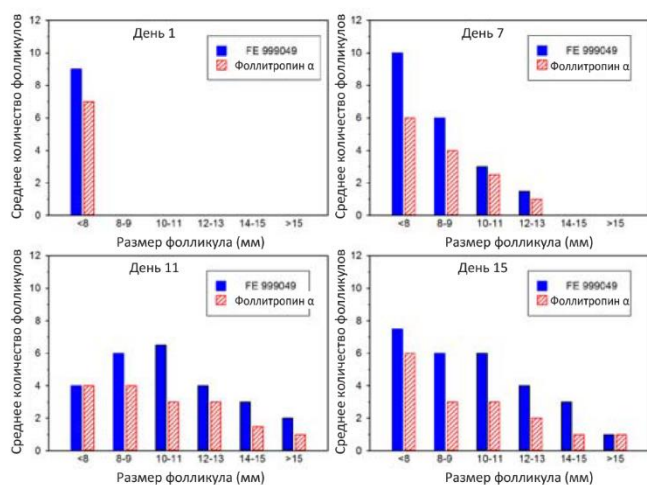
При повторных введениях время достижения устойчивого уровня концентрации ФСГ перед введением дозы было одинаковым как для FE 999049, так и для фоллитропина  $\alpha$ . Хотя фармакокинетические параметры фоллитропина  $\alpha$  близки к тем, о которых сообщалось для фоллитропина  $\beta$ ,<sup>26</sup> другого продукта рФСГ, также полученного из клеток ЯКХ, введение FE 999049 показывало более высокую  $C_{max}$  и более длительное время  $t_{1/2}$ , что приводило к значительно большей экспозиции, чем фоллитропин  $\alpha$ , как в течение всего периода лечения, так и во время интервала дозирования. Таким образом, похоже, что разные препараты рФСГ общего происхождения обладают схожими свойствами, в то время как различное происхождение может вызывать расхождения в их фармакокинетическом профиле.

**Таблица 3.** Сравнение фармакокинетических и фармакодинамических параметров после повторных п/к инъекций у здоровых женщин

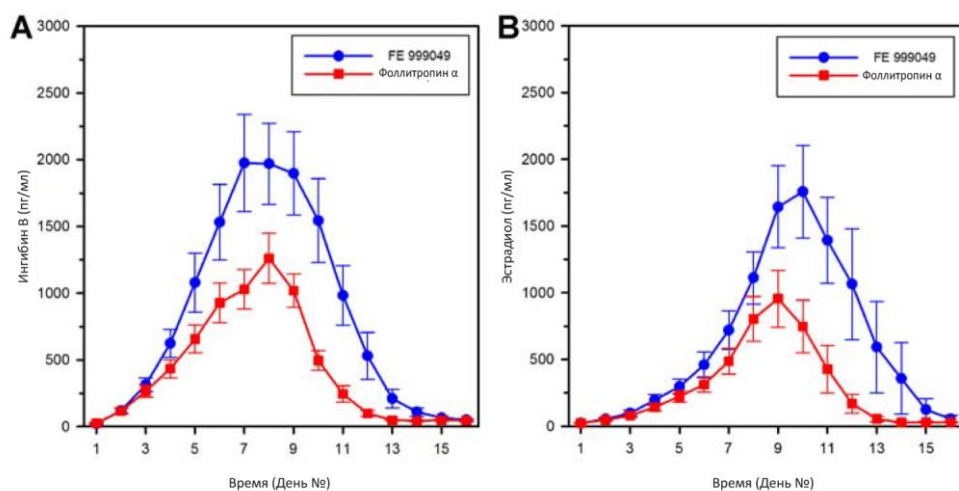
Параметр	Среднее арифметическое (СО)			
	FE 999049 (N=25)	Фоллитропин $\alpha$ (N=25)	ОСГ (90% ДИ)	Значение p
AUC <sub>t</sub> ФСГ (мМЕ * ч / мл)	410 (93)	262 (99)	1,63 (1,40; 1,90)	<0,001
AUC <sub>inf</sub> ФСГ (мМЕ * ч / мл)	1225 (397)	804 (469)	1,74 (1,37; 2,21)	<0,001
$C_{max}$ ФСГ (мМЕ / мл)	19,2 (4,4)	12,4 (4,5)	1,60 (1,38; 1,86)	<0,001
ФСГ CL/F (л/ч)	0,58 (0,13)	0,99 (0,41)	0,61 (0,53; 0,71)	<0,001
ФСГ $V_z$ / F (л)	24,2 (6,7)	30,4 (13,3)	0,84 (0,71; 1,00)	0,101
ФСГ $t_{max}$ (ч)	10,3 (6,6)	7,3 (5,0)	1,37 (1,03; 1,83)	0,074
ФСГ $t_{1/2}$ (ч)	29,8 (8,1)	24,2 (13,2)	1,38 (1,11; 1,70)	0,016
AUC <sub>inf</sub> Ингибина-В (нг / мл-дни)	12,6 (11,1)	6,33 (4,07)	1,83 (1,24; 2,71)	0,013
$C_{max}$ ингибина-В (нг / мл)	2,34 (1,93)	1,34 (0,97)	1,67 (1,13; 2,47)	0,033
AUC <sub>inf</sub> эстрадиола (нг / мл-дни)	9,55 (11,5)	4,17 (4,78)	2,26 (1,30; 3,92)	0,017
$C_{max}$ эстрадиола (нг / мл)	2,03 (2,18)	1,02 (1,12)	2,10 (1,24; 3,57)	0,023

N - количество субъектов; СО, стандартное отклонение; AUC<sub>t</sub>, AUC в течение одного интервала дозирования, то есть 24 часа. Каждой женщине ежедневно подкожно вводили FE 999049 или фоллитропин  $\alpha$  в течение 7 дней подряд. Все фармакокинетические и фармакодинамические параметры рассчитываются на основе концентраций в плазме после последнего введения. Конечные точки преобразуются перед анализом, а результаты преобразуются обратно и представляются в виде соотношений. Модель представляет собой ANOVA и включает лечение как фиксированный эффект. ОСГ указывает отношение среднего геометрического (доверительный интервал 90%). Среднее значение представляет собой среднее геометрическое значение наименьших квадратов, оцененное в модели.

**Рисунок 2.** Среднее количество фолликулов разных категорий размера после повторных п/к инъекций 225 МЕ FE 999049 или фоллитропина  $\alpha$  здоровым женщинам один раз в день в течение 7 дней подряд.



**Рисунок 3.** Динамика средних концентраций (СО) ингибина В (А) и эстрадиола (В) в сыворотке после повторных п/к инъекций 225 МЕ 999049 или фоллитропина α один раз в день в течение 7 дней подряд. Концентрации в дни 1–7 являются значениями до введения дозы.



Интересное наблюдение, общее для обоих типов соединений рФСГ, заключалось в том, что клиренс был выше, а конечный период полувыведения короче после 1 недели подкожного введения по сравнению с однократным введением. Механизм этого явления неизвестен, но ранее он наблюдался с использованием рФСГ<sup>17</sup>, полученного из ЯКХ, а также препаратов менотропина (МЕНОПУР; неопубликованные данные).

Период дозирования 7 дней в настоящем исследовании был несколько короче, чем нормальный период стимуляции, составляющий около 9–10 дней, у женщин, проходящих лечение ЭКО. Профили увеличения сывороточного ингибина В и эстрадиола были очень похожи как для FE 999049, так и для фоллитропина α, и соответствовали увеличению концентрации ФСГ. Семи дней подкожного введения было достаточно для достижения фармакокинетически устойчивого состояния, в то время как по наблюдениям предыдущих исследований рФСГ,<sup>27</sup> фармакодинамические реакции изначально отставали, но имели тенденцию продолжать расти также через несколько дней после последнего введения. Поскольку ни ингибин В, ни эстрадиол, по-видимому, не достигли устойчивого состояния после 7 дней лечения, не исключено, что продолжение лечения рФСГ привело бы к дальнейшему повышению концентрации. Величина гормонального ответа была постоянно выше после введения FE 999049 по сравнению с фоллитропином α и хорошо

соответствовала количеству и размеру растущих фолликулов. В целом, эти данные демонстрируют различия в фармакодинамических свойствах рФСГ из линии клеток человека и из линии клеток ЯКХ.

Количественная оценка биоактивности ФСГ как для FE 999049, так и для фоллитропина  $\alpha$  проводилась с использованием анализа Стилмана-Поли *in vivo* на крысах.<sup>18</sup> На основании результатов настоящего исследования ясно, что одинаковая биологическая активность рФСГ, экспрессируемого в клетке человека, или клеточной линией ЯКХ у крыс не будет транслироваться на ту же биоактивность для 2 продуктов рФСГ у людей. В заключение, результаты настоящего исследования ясно показывают, что препараты рФСГ из линии клеток человека и линии клеток ЯКХ демонстрируют значительные различия в фармакокинетических и фармакодинамических свойствах. Точный механизм еще предстоит выяснить, но поскольку аминокислотные последовательности идентичны, кажется вероятным, что более кислотные свойства FE 999049, снижая клиренс, вызывают большую экспозицию и более высокую биопотентность с точки зрения увеличения роста фолликулов при введении этого полученного из клеток человека препарата, по сравнению с рФСГ в виде фоллитропина  $\alpha$ , производимого ЯКХ. Однако предсказать, в какой степени различные свойства этих продуктов рФСГ применяются в клинической практике и повлияют на исход, на данном этапе было бы только предположением. Этот вопрос требует более точного рассмотрения в специальном клиническом исследовании с участием пациентов, оценивающим реакцию яичников, частоту продолжающейся беременности и другие клинически связанные параметры.

### **Благодарность**

Авторы выражают признательность всем исследователям и сотрудникам исследовательского центра. Мы также хотели бы поблагодарить Джоан-Карлс Арс, MD, PhD, Бернадетт Маннертс, PhD, и Лизбет Хелмгаард, MSc, за ценные комментарии к рукописи.

### **Заявление о конфликте интересов**

Хокан Олссон, Рикард Сандстрем и Ларс Грюндемар являются сотрудниками «Ферринг Фармасьютикалс А/С».