Биосимиляр двухфазного инсулина человека: результаты двойного слепого рандомизированного сравнительного перекрёстного клинического исследования фармакокинетики

Каронова Т. Л.[1], Майоров А. Ю.[2], Макаренко И. Е.[3], Кокшарова Е. О.[2], Авдеева О. И.[3], Андреева А. Т.[1], Драй Р. В.[3]

[1] – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России
[2] – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России
[3] – ГК «Герофарм»

Резюме. *Обоснование.* Распространённость сахарного диабета 2-го типа чрезвычайно высока, и число таких больных постоянно увеличивается. У 30–40 % больных только инсулинотерапия позволяет достичь компенсации заболевания. Терапия готовыми смесями рассматривается как альтернативный вариант при инициации и интенсификации инсулинотерапии. Ринсулин® микс 30/70 – отечественный биосимиляр (биоаналог) препарата Хумулин® М3, представляет собой комбинацию 30 % раствора инсулина человека и 70 % суспензии инсулина-изофана. В программу клинических исследований биосимиляров препаратов инсулина входят исследования фармакологии: фармакокинетика, фармакодинамика и исследование клинической безопасности. *Цель.* Оценка биосимилярности препаратов Ринсулин® микс 30/70 (биоаналог) и Хумулин® М3 (оригинальный) в условиях гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах. *Материалы и методы.* Исследование проведено на здоровых добровольцах мужского пола в возрасте от 18 до 50 лет. Дизайн исследования – двойное слепое рандомизированное перекрестное исследование сравнительной фармакокинетики препаратов. Препараты вводили подкожно в переднюю брюшную стенку в дозе 0,4 МЕ/кг однократно. Длительность забора крови для определения фармакокинетических параметров составила 24 ч: концентрацию инсулина в крови определяли методом иммуноферментного анализа. На основании уровня гликемии корректировали скорость инфузии глюкозы, данные которой использованы для расчёта фармакодинамических параметров. *Результаты и обсуждение.* Отмечена сопоставимость основных фармакокинетических и фармакодинамических характеристик препаратов Ринсулин® микс 30/70 и Хумулин® М3 в условиях гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах. Доверительный интервал для логарифмически преобразованного отношения значений параметра $C_{ins.max}$ составил 87,31–105,26 %, а $AUC_{ins.0-12}$ – 85,23–110,90 %, что попадает в заданные нормативными документами границы 80–125 % для установления сопоставимости между препаратами. Это подтверждает высокое подобие воспроизведённого препарата Ринсулин® микс 30/70 оригинальному препарату. Особую клиническую значимость имеет синхронное начало действие препаратов, время наступления максимального эффекта и продолжительность действия. Нежелательных явлений в исследовании, ассоциированных с введением препаратов, не зафиксировано. *Выводы.* Препараты Ринсулин® микс 30/70 и Хумулин® М3 являются эквивалентными.

Ключевые слова: инсулин генно-инженерный человеческий двухфазный; биосимиляр; фармакокинетика; фармакодинамика; гиперинсулинемический эугликемический клэмп

Для цитирования:
Каронова Т.Л., Майоров А.Ю., Макаренко И.Е., Кокшарова Е. О., Авдеева О.И., Андреева А.Т., Драй Р.В. Биосимиляр двухфазного инсулина человека: результаты двойного слепого рандомизированного сравнительного перекрёстного клинического исследования фармакокинетики // *Фармакокинетика и фармакодинамика.* – 2019. – № 3. – С. 39–46. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10054

Biosimilar of biphasic human insulin: results of a double-blind randomized comparative cross-sectional clinical study of pharmacokinetics

Karonova TL[1], Mayorov AYu [2], Makarenko IE[3], Koksharova EO[2], Avdeeva OI[3], Andreeva AT[1], Dry RV[3]
[1] – FSBI National Medical Research Center named after V.A. Almazova Ministry of Health of Russia
[2] – Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Endocrinology, Ministry of Health of Russia
[3] – GEROPHARM

Resume. Justification. The prevalence of type 2 diabetes is extremely high, and the number of such patients is constantly increasing. In 30–40% of patients, only insulin therapy can achieve compensation for the disease. Therapy with ready-made mixtures is considered as an alternative option in the initiation and intensification of insulin therapy. Rinsulin® mix 30/70 is a domestic biosimilar (bioanalogue) of Humulin® M3, a combination of a 30% solution of human insulin and a 70% suspension of insulin-isofan. The clinical research program for biosimilars of insulin preparations includes pharmacology studies: pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical safety research. Purpose. Evaluation of the biosimilarity of Rinsulin® mix 30/70 (bioanalog) and Humulin® M3 (original) preparations in the conditions of hyperinsulinemic euglycemic clamp in healthy volunteers. Materials and methods. The study was conducted on healthy male volunteers aged 18 to 50 years. Study design is a double-blind, randomized, crossover study of the comparative pharmacokinetics of drugs. The drugs were injected subcutaneously into the anterior abdominal wall at a dose of 0.4 IU / kg once. The duration of blood sampling to determine the pharmacokinetic parameters was 24 hours: the concentration of insulin in the blood was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Based on the level of glycemia, the glucose infusion rate was adjusted, the data of which were used to calculate the pharmacodynamic parameters. Results and discussion. Comparability of the main pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of the Rinsulin® mix 30/70 and Humulin® M3 preparations in the conditions of hyperinsulinemic euglycemic clamp in healthy volunteers was noted. The confidence interval for the logarithmically transformed ratio of the values of the parameter $C_{ins.max}$ was 87.31–105.26%, and $AUC_{ins.0-12}$ – 85.23–110.90%, which falls within the limits set by regulatory documents 80–125% to establish comparability between drugs. This confirms the high similarity of the reproduced Rinsulin® Mix 30/70 to the original drug. Of particular clinical significance is the synchronous onset of drug action, the time of onset of the maximum effect and duration of action. Adverse events in the study associated with the introduction of drugs were not recorded. Conclusions. Rinsulin® mix 30/70 and Humulin® M3 are equivalent.

Keywords: insulin genetically engineered human biphasic; biosimilar; pharmacokinetics; pharmacodynamics; hyperinsulinemic euglycemic clamp

For citations:
Karonova TL, Mayorov AYu, Makarenko IE, Koksharova EO, Avdeeva OI, Andreeva AT, Dry RV. Biosimilar of biphasic human insulin: results of a double-blind randomized comparative cross-sectional clinical study of pharmacokinetics. *Farmakokinetika i farmakodinamika.* 2019;3:39–46. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10054

Введение

Сахарный диабет 2-го типа (СД 2 типа) является хроническим заболеванием, представляющим собой серьёзную медико-социальную проблему. Распространённость СД 2-го типа чрезвычайно высока, и число таких больных постоянно увеличивается. По данным экспертов ВОЗ, общее количество больных сахарным диабетом к 2025 г. превысит 380 млн человек. По данным регистра больных СД, в России в 2018 г. число больных с СД составило более 4,62 млн, из них 4,27 млн страдают СД 2-го типа [1].

СД занимает третье место среди причин смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Известно, что при установлении диагноза СД более 50 % больных уже имеют микро- и макрососудистые осложнения СД, а стоимость амбулаторной медицинской помощи при наличии осложнений увеличивает стоимость лечения в 3–13 раз [2].

В исследованиях DCCT, UKPDS, Steno-2 убедительно доказано, что достижение целевых значений гликемии снижает риск развития микро- и макрососудистых осложнений. Согласно Алгоритмам специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом [3], рекомендациям ADA и EASD, целевой уровень гликированного гемоглобина не должен превышать 7 %.

У 30–40 % больных СД 2 типа только инсулинотерапия позволяет достичь компенсации заболевания [4]. Существуют различные подходы к старту и интенсификации инсулинотерапии. Согласно рекомендациям ADA/EASD [5], пациентам, не достигшим компенсации на терапии пероральными сахароснижающими препаратами, обычно назначают терапию базальным инсулином. Когда целевые показатели гликемического контроля не достигнуты или его не удаётся поддерживать при проводимом режиме терапии, добавляют прандиальный инсулин. Терапия готовыми смесями рассматривается как альтернативный вариант при инициации и интенсификации инсулинотерапии. Согласно российским рекомендациям [3], готовые смеси используются как на старте инсулинотерапии наравне с базальным инсулином, так и в качестве интенсификации вместе с прандиальным инсулином.

В 2002 г. компанией ГЕРОФАРМ был зарегистрирован генно-инженерный инсулин человека (ГИИЧ) с полным циклом производства на территории РФ, на основе которого с 2004 г. в Российской Федерации успешно применяются препараты Ринсулин® Р (короткого действия) и Ринсулин® НПХ (средней продолжительности действия) – биосимиляры препаратов Хумулин® Регуляр и Хумулин® НПХ. За время их применения не было выявлено случаев отмены или приостановки действия регистрационных удостоверений. В рамках рутинных мероприятий по фармаконадзору также не было выявлено различий между препаратами.

Препарат двухфазного действия Ринсулин® микс 30/70 проходит процедуру регистрации в качестве воспроизведённого (биосимилярного) препарату Хумулин® М3. Двухфазность профиля достигается за счёт комбинации 30 % короткодействующего препарата Ринсулин® Р и 70 % препарата Ринсулин® НПХ с продолжительностью действия до 24 ч.

Клинические исследования ГИИЧ, подтвердившего свою биосимилярность референтному препарату по физико-химическим свойствам и в фармакологических испытаниях *in vitro*, включают исследования фармакологии: фармакокинетика (ФК), фармакодинамика (ФД) и исследование клинической безопасности.

Клиническое изучение фармакологических свойств инсулина проводят с помощью гиперинсулинемического эугликемического клэмпа (ГЭК) [6–8]. ГЭК признанный эталонный метод для изучения фармакодинамических свойств антидиабетических препаратов [9–11], так как способен с высокой степенью точности обнаружить различия биосимиляра и референтного препарата [6, 12]. Результаты по сравнительной фармакологии тестируемого препарата (ТП) и препарата сравнения (ПС) также позволяют оценить и их клиническую сопоставимость, так как скорость инфузии глюкозы (СИГ) непосредственно измеряет фармакологическое действие инсулина, заключающееся в утилизации экзогенно поступившей глюкозы [10]. Следовательно, подтверждение аналогичного влияния препаратов на СИГ будет обеспечивать аналогичное терапевтическое действие [6–8, 12]. Таким образом, проводить отдельные исследования эффективности при изучении биоподобия инсулинов не требуется, поскольку конечные точки, изучаемые в этих исследованиях (обычно это HbA_{1c}), считаются недостаточно чувствительными для выявления потенциальных клинически значимых различий между двумя инсулинами [6–8, 12].

Цель исследования. Подтверждение биосимилярности препаратов Ринсулин® микс 30/70, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумулин® М3, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) в условиях ГЭК на здоровых добровольцах.

Материалы и методы

Дизайн исследования – двойное слепое рандомизированное перекрестное исследование сравнительной фармакокинетики ТП Ринсулин® микс 30/70 (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и ПС Хумулин® М3 («Лилли Франс», Франция).

В соответствии с нормативными рекомендациями [6, 7], исследование было проведено на добровольцах мужского пола в возрасте от 18 до 50 лет (включительно) европеоидной расы, с индексом массы тела 18,5–27 кг/м^2 с верифицированным диагнозом «здоров», по данным стандартных клинических, лабораторных и

инструментальных методов обследования. Основными критериями невключения были: эпизоды гипогликемии в анамнезе, или наличие в семейном анамнезе случаев верифицированного диагноза сахарный диабет у ближайших родственников; уровень глюкозы в плазме натощак > 6,1 ммол/л; уровень HbA_{1C} > 6 %; пероральный глюкозотолерантный тест – уровень глюкозы в крови ≥7,8 ммоль/л (через 2 ч после нагрузки глюкозой).

Исследование было проведено на базе клинических центров ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Для участия в исследовании были привлечены здоровые добровольцы из базы данных добровольцев исследовательских центров.

Длительность исследования для каждого добровольца не превысила 45 дней. Общая продолжительность исследования составила 3 мес. (с 18.07.2017 по 24.10.2017 гг.).

Каждый доброволец в данном исследовании прошёл 5 визитов в исследовательский центр.

Визит 1 – скрининг. На данном визите был собран медицинский анамнез, проводили стандартные клинический и биохимический анализы крови, анализ мочи, физикальный осмотр, оценку индекса массы тела, измерение жизненно важных показателей (артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений). На основании результатов врач-исследователь делал вывод о соответствии добровольца критериям для участия в исследовании.

Визит 2 и 4 – ГЭК. Добровольцев, успешно прошедших скрининг (сокращённый скрининг), приглашали в исследовательские центры для проведения периодов ГЭК. В периоде I ГЭК (Визит 2) добровольцев рандомизировали в одну из двух исследуемых групп, за исключением этого, период I ГЭК (Визит 2) и период II ГЭК (Визит 4) были аналогичны. Добровольцев накануне проведения ГЭК госпитализировали в клинический центр. Последний приём пищи был не позднее 19.00 с целью обеспечения проведения процедур исследования натощак с периодом голодания не менее 12 ч до инъекции исследуемого препарата (ИП).

За полтора часа перед началом процедуры ГЭК проводили обследование в рамках изучения безопасности ИП: физикальный осмотр и оценку жизненно важных показателей. Примерно за 60 мин до планируемого введения ИП участники принимали горизонтальное положение, производили подготовку к процедуре ГЭК с постановкой внутривенных катетеров и линий для инфузий в локтевую вену одной руки и вену кисти другой руки. Проводили мониторинг концентрации глюкозы в крови добровольцев (за 60 и 30 мин до введения ИП). Если уровень глюкозы в крови находился в целевом диапазоне (4,4–5,6 ммоль/л), то такого добровольца подвергали процедуре ГЭК. Если уровень глюкозы в крови был за пределами этих границ, ГЭК для данного участника переносили на другой день.

Исследование было двойным слепым с целью снижения возможной необъективности исследователя. ИП поступали в клинический центр в одинаковых упаковках разослепленной команде, которая подготавливала ИП для введения субъекту исследования. Приготовление осуществляли за определённое время до инъекции в соответствии с предоставленными инструкциями. Инъекцию ИП производила заслеплённая команда непосредственно перед ГЭК в дозе 0,4 МЕ/кг однократно подкожно в область подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки живота.

После инъекции ИП контролировали уровень глюкозы в крови. Началом действия ИП считали снижение уровня глюкозы в крови на величину более 5 % от изначальной величины. При регистрации начала действия ИП начинали управляемую инфузию раствора глюкозы для поддержания целевого уровня глюкозы в крови 4,4–5,6 ммоль/л (80–100 мг/дл). Контроль и коррекцию СИГ производили каждые 5 мин в течение первых 10 ч, с 10 до 12 часов – каждые 10 мин, с 12 до 24 часов (или до окончания гипогликемического действия ИП) – каждые 15 мин.

Визит 3 – сокращенный скрининг. Визит проходил перед II периодом ГЭК (визитом 4), с целью подтверждения соответствия добровольца критериям для продолжения исследования. Проводили процедуры аналогичные визиту 1, кроме сбора демографических данных и медицинского анамнеза.

Визит 5 – заключительный визит безопасности. На данном визите проводили стандартные клинический и биохимический анализы крови, анализ мочи, физикальный осмотр, оценку индекса массы тела, измерение жизненно важных показателей (артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений).

Первичными конечными точками в настоящем исследовании являлись фармакокинетические показатели ИП: суммарная площадь под кривой (AUC) «концентрация исследуемого инсулина – время» в интервале времени от 0 до 12 ч ($AUC_{ins.0\text{-}12}$), максимальная концентрация инсулина в крови за период наблюдения ($C_{ins.max}$).

Вторичными конечными точками в настоящем исследовании являлись фармакокинетические показатели ИП: $AUC_{ins.0\text{-}2}$; $AUC_{ins.0\text{-}6}$; $AUC_{ins.0\text{-}24}$; $AUC_{ins.0\text{-}\infty}$; время достижения максимальной концентрации инсулина – t_{max}; период полувыведения инсулина –$t_{1/2}$; а также следующие фармакодинамические показатели: суммарная площадь под кривой «СИГ-время» в интервале времени от 0 до 12 ч ($AUC_{GIR0\text{-}12}$); до 24 ч – $AUC_{GIR0\text{-}24}$; максимальная СИГ за период исследования – GIR_{max}; время достижения максимальной СИГ глюкозы – $tGIR_{max}$; время между введением ИП и началом инфузии глюкозы – $tGIR_{lag}$.

Критериями оценки безопасности в настоящем исследовании являлись: частота и тяжесть возникновения нежелательных явлений (НЯ); отклонения от нормы жизненно важных показателей: артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений, температуры тел; частота возникновения местных реакций в месте инъекции; отклонения от нормы уровня калия в крови; отклонения от нормы лабораторных показателей и ЭКГ.

Анализ результатов проводили на данных, полученных непосредственно после введения ТП и ПС, группы Ринсулин® микс 30/70 и Хумулин® М3, соответственно.

Каждому добровольцу вводили ТП и ПС (в разные периоды ГЭК). Для создания рандомизационной последовательности использовали стандартные функции программного обеспечения R 3.4.2. Таким образом, обеспечивалось сбалансированное случайное распределение добровольцев по 2 исследуемым группам в соотношении 1:1. Информацию о рандомизационных номерах передавали в исследовательский центр в запечатанных конвертах. Первая группа получила во время первого периода ТП, а во время второго периода – ПС. Вторая группа, наоборот – во время первого периода получила ПС, а во время второго периода – ТП. Очередность периодов была неизвестна для добровольцев и исследователей.

Фармакокинетика. Для получения первичных данных по фармакокинетике отбор крови для определения концентрации инсулина в крови производили за 30 мин и непосредственно до введения ИП и после введения ИП по следующей схеме: до точки 5 ч отбор осуществляли каждые 15 мин, до точки 10 ч каждые 30 мин, до точки 16 ч каждые 60 мин, затем до конца исследования (точка 24 ч или момент прекращения инфузии раствора глюкозы) – каждые 120 мин. Общая продолжительность наблюдения составила 24 ч, однако в соответствии с принятыми стандартами [6–8] анализ данных осуществляли в пределах дозировочного интервала, который для ИП составил 12 ч.

Угнетение выработки собственного инсулина подтверждали с помощью определения концентрации С-пептида в точках 0, 30, 60, 90, 120 мин, 12, 18 и 24 ч (или в момент прекращения инфузии глюкозы).

Количественное определение инсулина и С-пептида было проведено в аналитической лаборатории ООО «Квинта-Аналитика Ярославль» методом иммуноферментного анализа (ИФА) по заранее валидированной методике. Транспортировка из исследовательского центра была выполнена с соблюдением холодовой цепи при –20 °С. Анализ выполнен на автоматическом иммуноферментном анализаторе Personal Lab, производства Adaltis S.r.l., Италия.

Фармакодинамика. Количественное определение глюкозы в образцах цельной венозной крови в период ГЭК производили с помощью откалиброванных глюкометров StatStrip Glucose and β–Ketone Hospital Meter производства Nova Biomedical, США [13, 14].

Каждый доброволец подписал информированное согласие до начала любых процедур исследования. Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, принципами Надлежащей клинической практики и локальными регуляторными требованиями. Протокол исследования был одобрен Министерством Здравоохранения РФ (разрешение № 302 от 29.04.2016), а также независимыми этическими комитетами при клинических центрах ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва (выписка из протокола № 12 от 28 июня 2017 г.) и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург (выписка из протокола №121 от 14 августа 2017 г.).

Принципы расчёта размера выборки. Расчёт размера выборки был определён целью исследования – сравнением фармакокинетических свойств препаратов Ринсулин® микс 30/70 и Хумулин® М3 у здоровых добровольцев. Для расчёта размера выборки были использованы данные по среднему значению и стандартному отклонению первичных фармакокинетических показателей $AUC_{ins.}$ и $C_{ins.max}$ [15]. Расчёт размера выборки был выполнен для более вариабельного показателя, которым оказался $AUC_{ins.}$.

Методы статистического анализа данных. Статистическую обработку данных и оформление результатов проводили с помощью пакетов программного обеспечения R 3.4.2. Площадь под кривой рассчитывали методом трапеций.

Анализ первичных ФК параметров $C_{ins.max}$ и $AUC_{ins.0-12}$ проводили в предположении о логнормальном распределении показателей. После проведения логарифмического преобразования (по основанию натурального логарифма) эти показатели анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием общей линейной модели. Модель дисперсионного анализа включала следующие факторы: последовательность введения препаратов, доброволец (включённый в последовательность), период исследования и препарат как источники вариации. Полученную оценку остаточной вариации использовали при расчёте 90 % доверительных интервалов для отношения геометрических средних ФК параметров $C_{ins.max}$ и $AUC_{ins.0-12}$ ТП (Ринсулин® микс 30/70) к ПС (Хумулин® М3). Сопоставимость считалась доказанной, если 90 % доверительные интервалы находились в пределах 80–125 % [7, 12].

Расчёт доверительных интервалов для фармакодинамических параметров не проводили, так как в соответствии с требованиями нормативных документов [6–8] сопоставление фармакодинамических профилей для инсулинов двухфазного действия при разработке препарата инсулина короткого/ультракороткого действия с тем же действующим веществом не требуется.

Сопоставление фармакодинамических профилей производится только для растворимой формы (инсулина короткого/ультракороткого действия).

Вторичные ФК параметры ($AUC_{ins.0-2}$, $AUC_{ins.0-6}$, $AUC_{ins.0-24}$, $AUC_{ins.0-\infty}$, $t_{1/2}$, t_{max}) и ФД параметры (GIR_{max}, $AUC_{GIR0-12}$, $AUC_{GIR0-24}$, $tGIR_{max}$, $tGIR_{lag}$) анализировали с помощью показателей описательной статистики.

Анализ данных о НЯ выполнен с использованием критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

После прохождения скрининга в исследование было включено 32 здоровых добровольца, соответствующих критериям включения/невключения. Характеристика добровольцев представлена в табл. 1.

Таблица 1

Демографическая и антропометрическая информация обо всех рандомизированных субъектах (среднее ± стандартное отклонение, *n* = 32)

Показатель	Значения
Возраст (лет)	29,41 ± 4,90
Масса тела (кг)	77,85 ± 9,81
Рост (см)	181,84 ± 5,42
ИМТ (кг/м^2)	23,49 ± 2,34

Динамика изменений уровней С-пептида, как маркера выработки собственного инсулина в ответ на внутривенное введение раствора глюкозы, была проанализирована для каждого участника. Отличий между препарата не выявлено ($p < 0,05$).

У ряда субъектов были выявлены единичные значимые повышения уровня С-пептида относительно исходного уровня (0 мин до введения ИП). За значимое повышение было принято увеличение уровня на 0,6041 нг/мл (200 пмоль/л) [10]. В большинстве случаев (96,4 %) разница составила меньше 0,6041 нг/мл, что свидетельствовало об отсутствии выработки эндогенного инсулина в ответ на внутривенное введение раствора глюкозы, тем самым подтверждая удовлетворительное качество проведения клэмп-исследования.

На основании результатов измерения уровня глюкозы в крови в течение клэмпа также были рассчитаны показатели, подтвердившие удовлетворительное качество клэмп-исследования:

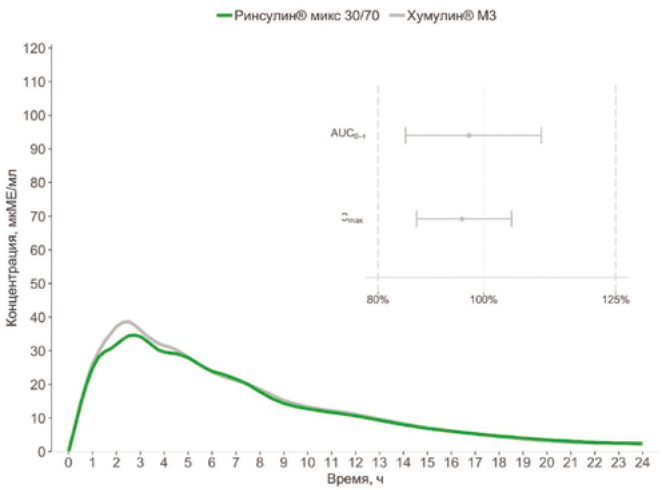


Рис. 1. Усреднённые фармакокинетические профили концентрации инсулина в плазме крови участников после подкожного введения ТП и ПС (*n* = 32)

• среднее значение коэффициента вариации (CV, %) составило 5,61 ± 0,94 % в группе ТП Ринсулин® микс 30/70 и 5,48 ± 0,88 % в группе ПС Хумулин® М3;

• значение разницы от целевого уровня 5 ммоль/л в течение клэмп-теста составило 0,23 ± 0,04 ммоль/л в группе ТП Ринсулин® микс 30/70 и 0,23 ± 0,04 ммоль/л в группе ПС Хумулин® М3.

На рис. 1 представлены усредненные фармакокинетические кривые «концентрация–время» ТП и ПС в плазме крови добровольцев. Отмечена сопоставимость основных фармакокинетических характеристик (табл. 2). Так, C_{max} составила 46,20 ± 12,65 и 48,25 ± 13,85 мкМЕ/мл, t_{max} – 3,41 ± 1,46 и 3,52 ± 1,85 ч, а AUC_{0-12} – 257,80 ± 87,63 и 271,03 ± 106,39 (мкМЕ/мл) × × ч, соответственно.

Таблица 2

Фармакокинетические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности (*n* = 32)

Параметры	Ринсулин® микс 30/70 (ТП) [a]	Хумулин® М3 (ПС)[a]	Отношение ТП/ПС [90 % ДИ][b]
$C_{ins.max}$, кМЕ/мл	46,20 ± 12,65	48,25 ± 13,85	0,96 [87,31; 105,26]
$AUC_{ins.0-12}$, (мкМЕ/мл) × ч	257,80 ± 87,63	271,03 ± 106,39	0,97 [85,23; 110,90]
$AUC_{ins.0-2}$, (мкМЕ/мл) × ч	41,87 ± 17,87	45,40 ± 23,49	
$AUC_{ins.0-6}$, (мкМЕ/мл) × ч	161,53 ± 57,50	172,38 ± 69,87	
$AUC_{ins.0-24}$, ((мкМЕ/мл) × ч	318,55 ± 112,89	330,77 ± 125,95	
$AUC_{0-\infty}$, (мкМЕ/мл) × ч	362,16 ± 127,74	412,91 ± 220,26	
t_{max}, ч	3,41 ± 1,46	3,52 ± 1,85	
$t_{1/2}$, ч	5,71 ± 4,45	8,14 ± 11,42	

Примечание: a – результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение; b – представлено отношение геометрических средних, для отношения ФК параметров приведен 90 % ДИ.

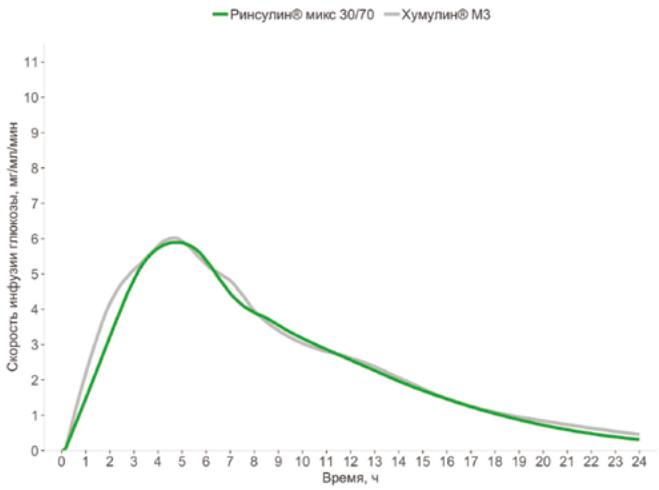


Рис. 2. Усредненные фармакодинамические кривые «СИГ-время» после подкожной инъекции ТП и ПС

На рис. 2 представлены усредненные ФД кривые «СИГ–время». Зафиксирована сопоставимость параметров действия ТП и ПС у добровольцев (табл. 3). Так, начало действия ИП ($tGIR_{lag}$) зафиксировано в 0,56 ± 0,32 и 0,58 ± 0,35 ч, соответственно. Также сопоставимыми были время достижения максимальной скорости инфузии глюкозы ($tGIR_{max}$), т. е. время наступления максимального эффекта изучаемых инсулинов и максимальная СИГ (GIR_{max}) – собственно максимальный эффект. $tGIR_{max}$ составил 4,85 ± 1,14 и 4,81 ± 1,36 ч, GIR_{max} – 7,16 ± 2,17 и 7,21 ± 2,01 мг/кг/мин соответственно, для ТП и ПС. Площади под кривыми $AUC_{GIR0-12}$ составили 45,84 ± 15,22 и 47,83 ± 14,53 (мг/кг) × 60, соответственно. Эти данные в совокупности с характерами кривых «СИГ–время» свидетельствуют о сопоставимости ФД эффектов ИП.

Количество выявленных нежелательных явлений приведено в табл. 4. Статистически значимых различий между сравниваемыми препаратами не выявлено. Степень тяжести всех НЯ была расценена врачом-исследователем как лёгкая. У 10 добровольцев (6 – в группе тестируемого препарата, 4 – в группе препарата сравнения) были зарегистрированы 13 НЯ.

В исследовании были зафиксированы следующие виды НЯ: «Флебит» (3 случая, из них 2 случая в группе тестируемого препарата и 1 случай в группе препарата сравнения), «Тромбофлебит» (1 случай в группе препарата сравнения), «Железодефицитная анемия вторичная» (1 случай в группе тестируемого препарата), «Гипербилирубинемия» (3 случая в группе тестируемого препарата и 2 случая в группе препарата сравнения), «Повышение активности АЛТ» и «Повышение активности АСТ» (у одного и того же участника в группе тестируемого препарата), «Мочекаменная болезнь» (1 случай в группе тестируемого препарата). Все НЯ были оценены врачами-исследователями как имеющие возможную связь с введением препаратов, однако, учитывая особенности манипуляций в клэмп-исследовании, а также возможные транзиторные метаболические нарушения при гиперинсулинемии, данные НЯ представляются не связанными с введением препаратов, а были обусловлены манипуляциями в ходе проведения исследования. Все НЯ завершились полным выздоровлением. Медикаментозная терапия потребовалась только в случае флебита (гепариновая мазь) и тромбофлебита (гепариновая мазь+ацетилсалициловая кислота).

Все жизненно важные показатели и показатели, полученные с помощью лабораторных и инструментальных способов исследования, оставались в пределах нормы или вариантов нормы, или имели клинически незначимые отклонения (кроме случаев обозначенных НЯ). Уровень ионов калия в крови оставался стабильным в течение исследования. Местных реакций на введение ИП не обнаружено.

В соответствии с регуляторными требованиями [6–8, 12] статистическая оценка эквивалентности ИП была проведена на основании укладывания 90 % доверительного интервала отношения первичных ФК-конечных точек ТП к ПС в заранее определённые границы эквивалентности. Границами эквивалентности служили рекомендованные Европейскими и отечественными требованиями к изучению биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный инсулин и аналоги инсулина, 80–125 %. В данном исследовании было выявлено, что доверительный интервал для логарифмически преобразованного отношения значений параметра $C_{ins.max}$ составил 87,31–105,26 %, а $AUC_{ins.0-12}$ – 85,23–110,90 %.

Таблица 4

Нежелательные явления

	Ринсулин® микс 30/70 (*n* = 32)			**Хумулин® М3 (*n* = 32)**			***p*-value**
	Число субъектов (%)	Количество случаев		Число субъектов (%)	Количество случаев		
Нежелательные явления	6 (18,75)	Лёгкая	9	4 (12,50)	Лёгкая	4	0,7323[f]
		Средняя	0		Средняя	0	
		Тяжёлая	0		Тяжёлая	0	
		Всего	9		Всего	4	

Примечание: f – точный критерий Фишера.

Это подтвердило высокое подобие ТП Ринсулин® микс 30/70 оригинальному препарату.

Проанализированные фармакодинамические параметры сравниваемых препаратов были сопоставимы. Особую клиническую значимость имеет синхронное начало действие препаратов, время наступления максимального эффекта и продолжительность действия.

Качество проведённого клэпм-исследования, определённого по степени подавления секреции собственного инсулина и уровню удержания нормогликемии в течении клэмп-исследования, было удовлетворительным и сопоставимым между группами.

Ограничения исследования. Использование популяции здоровых волонтеров позволило минимизировать влияние факторов сопутствующих заболеваний на показатели концентрации инсулина и глюкозы в плазме крови. Тем не менее, полученные данные на однородной выборке без сопутствующих факторов искажения можно экстраполировать на всю популяцию пациентов с сахарным диабетом.

Выводы

На основании проведённого двойного слепого, рандомизированного, сравнительного, перекрёстного исследования фармакокинетики препаратов Ринсулин® микс 30/70, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумулин® М3, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах ТП Ринсулин® микс 30/70 и ПС Хумулин® М3 являются эквивалентными. Сопоставимость также подтверждена на основе полученных данных ФД.

Сходность фармакологических (ФК/ФД) характеристик данных типов инсулинов позволяет экстраполировать эффективность референтного препарата Хумулин® М3, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) на ТП Ринсулин® микс 30/70, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия).

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции, дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Каронова Т.Л., Майоров А.Ю., Кокшарова Е.О., Андреева А.Т. являются представителями клинических центров, проводивших описываемое клиническое исследование при финансовой поддержке ГЕРОФАРМ. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Драй Р.В. являются сотрудниками ГЕРОФАРМ.

Выражение признательности.

Авторы выражают признательность сотрудникам аналитической лаборатории ООО «Квинта-Аналитика Ярославль», руководителю проекта Афонькиной Олене Валерьевне, руководителю отдела клинических операций Беликовой Татьяне Михайловне, а также редакции журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика».

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Каронова Татьяна Леонидовна
ORCID ID: 0000-0002-1547-0123
SPIN-код: 3337-4071
д. м. н., гл. н. с., руководитель научно-исследовательской лабораторией клинической эндокринологии, эндокринолог, профессор кафедры внутренних болезней. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России

Майоров Александр Юрьевич
ORCID ID: 000-0001-5825-3287
SPIN-код: 4275-7779
д. м. н., профессор, зав. отделом прогнозирования и инноваций диабета Института диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России

Макаренко Игорь Евгеньевич
ORCID ID: 0000-0003-2308-0608
SPIN-код: 8213-1789
к. м. н., руководитель отдела фармакологии и ранних фаз клинических исследований ГЕРОФАРМ

Karonova Tatyana
ORCID ID: 0000-0002-1547-0123
SPIN-code: 3337-4071
Doctor of Medical Science, Ph.D., head of the research laboratory of clinical endocrinology, endocrinologist, professor of the department of internal diseases. FSBI National Medical Research Center named after V.A. Almazova Ministry of Health of Russia

Mayorov Alexander
ORCID ID: 000-0001-5825-3287
SPIN-code: 4275-7779
Doctor of Medical Sciences, Professor, Head. Diabetes Forecasting and Innovation Division, Institute of Diabetes, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Endocrinology, Ministry of Health of Russia

Makarenko Igor
ORCID ID: 0000-0003-3188-6257
SPIN-code: 8213-1789
MD, PhD, head of the department of pharmacology and early phases of clinical trials of GEROPHARM

Кокшарова Екатерина Олеговна
ORCID ID: 0000-0001-9896-4681
SPIN-код: 335-3438
н. с. лаборатории клэмп-технологий Института диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России

Koksharova Ekaterina
ORCID ID: 0000-0001-9896-4681
SPIN-code: 335-3438
Researcher, Laboratory of Clamp Technologies, Institute of Diabetes, National Medical Research Center for Endocrinology, Ministry of Health of Russia

Авдеева Ольга Ильинична
Автор, ответственный за переписку
e-mail: olga.avdeeva@geropharm.com
ORCID ID: 0000-0002-6759-4283
SPIN-код: 2395-3691
к. фарм. н, медицинский писатель департамента клинических исследований ГЕРОФАРМ

Avdeeva Olga Ilyinichna
Corresponding author
e-mail: olga.avdeeva@geropharm.com
ORCID ID: 0000-0002-6759-4283
SPIN-code: 2395-3691
PhD in Pharmaceutical Science, medical writer, Department of Clinical Research, GEROPHARM

Андреева Алена Тимуровна
м. н. с. научно-исследовательской лаборатории клинической эндокринологии, эндокринолог. ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России

Andreeva Alena
junior researcher at the research laboratory of clinical endocrinology, endocrinologist. FSBI National Medical Research Center named after V.A. Almazova Ministry of Health of Russia

Драй Роман Васильевич
ORCID ID: 0000-0003-4594-6097
SPIN-код: 5271-0404
к. м. н., директор R&D ГЕРОФАРМ

Dray Roman
ORCID ID: 0000-0003-4594-6097
SPIN-code: 5271-0404
MD, PhD, director of R&D GEROPHARM

Литература / References

1. Федеральный регистр больных сахарным диабетом. [Federal'nyj registr bol'nyh saharnym diabetom [Internet] (In Russ).] URL: http://diaregistry.ru. (lata обращения 03.2019).

2. Результаты реализации подпрограммы «Сахарный диабет» Федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями 2007–2012 годы» / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой // *Сахарный диабет.* 2013. Спецвыпуск. [Rezul'taty realizacii podprogrammy «Saharnyj diabet» Federal'noj celevoj programmy «Preduprezhdenie i bor'ba s social'no znachimymi zabolevaniyami 2007–2012 gody» / Ed by I.I. Dedova, M.V. SHestakovoj. *Diabetes mellitus.* 2013. Specvypusk. (In Russ).]

3. *Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом* / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. – 8-й выпуск. – М.: УП ПРИНТ; 2017. [*Standards of Specialized Diabetes Care* / Ed. by Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY. 8th Edition. Moscow: UP PRINT; 2017. (In Russ).] DOI: 10.14341/DM20171S8

4. Джавахишвили Т.Ш., Романцова Т.И., Роик О.В. Динамика массы тела у больных сахарным диабетом 2 типа в течение первого года инсулинотерапии // *Ожирение и метаболизм*. – 2010. – № 4. – С. 13–19. [Dzhavahishvili TSH, Romancova TI, Roik OV. Dinamika massy tela u bol'nyh saharnym diabetom 2 tipa v techenie pervogo goda insulinoterapii. *Ozhirenie i metabolizm*. 2010;4:13–19. (In Russ).]

5. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. *Diabetes Care*. 2009 Jan;32(1):193–203. DOI: 10.2337/dc08-9025

6. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues (EMEA/CHMP/BMWP/32775/2005_Rev. 1).

7. Решение № 89 от 3 ноября 2016 года "Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза», глава 15.7 "Доклиническая и клиническая разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих рекомбинантный инсулин и аналоги инсулина". [Decision № 89 of Nov 3 2016 "Ob utverzhdenii pravil provedeniya issledovaniy biologicheskikh lekarstvennykh sredstv Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza", glava 15.7 "Doklinicheskaya i klinicheskaya razrabotka bioanalogichnyh (biopodobnyh) lekarstvennyh preparatov, soderzhashchih rekombinantnyj insulin i analogi insulina". (In Russ).]

8. Разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции генно-инженерный инсулин человека или аналоги инсулина человека // Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том IV. – М.: Полиграф-плюс; 2014. [Razrabotka bioanalogichnykh (biopodobnykh) lekarstvennykh preparatov, soderzhashchikh v kachestve farmatsevticheskoy substvantsii genno-inzhenernyy insulin cheloveka ili analogi insulina cheloveka. In: Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv. Vol. IV. Moscow: Poligraf-plyus; 2014. (In Russ).]

9. Heinemann L, Anderson JH. Measurement of insulin absorption and insulin action. *Diabetes Technol Ther.* 2004 Oct;6(5):698–718. DOI: 10.1089/dia.2004.6.698

10. Heise T, Zijlstra E, Nosek L, et al. Euglycaemic glucose clamp: what it can and cannot do, and how to do it. *Diabetes Obes Metab*. 2016 Oct;18(10):962-72. DOI: 10.1111/dom.12703

11. Hompesch M, Rave K. An Analysis of How to Measure Glucose during Glucose Clamps: Are Glucose Meters Ready for Research? *J. Diabetes Sci. Technol.* 2008; 2(5):896-898. DOI: 10.1177/193229680800200522

12. Guideline on similar biological medicinal products (CHMP/437/04 Rev. 1).

13. Rabiee A, Magruder JT, Grant C, et al. Accuracy and reliability of the Nova StatStrip® glucose meter for real-time blood glucose determinations during glucose clamp studies. *J Diabetes Sci Technol.* 2010 Sep 1;4(5):1195–201. DOI: 10.1177/193229681000400519

14. Lindquist KA, Chow K, West A, et al. The StatStrip glucose monitor is suitable for use during hyperinsulinemic euglycemic clamps in a pediatric population. *Diabetes technology & therapeutics.* 2014;16(5):298–302.

15. Woodworth JR, Howey DC, Bowsher RR, et al. Comparative pharmacokinetics and glucodynamics of two human insulin mixtures. 70/30 and 50/50 insulin mixtures. *Diabetes Care.* 1994;17(5):366–371.