

Результаты двойного слепого рандомизированного сравнительного перекрёстного исследования фармакокинетики и фармакодинамики препаратов генно-инженерного инсулина человека

Майоров А. Ю.¹, Авдеева О. И.², Кокшарова Е. О.¹, Беликова Т. М.²,
Мишина Е. Е.¹, Драй Р. В.²

¹ – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва

² – ГК «Герофарм», Санкт-Петербург

Резюме. Обоснование. В среднем, из всех мировых расходов на здравоохранение на сахарный диабет приходится около 12 %. Одним из первых отечественных препаратов инсулина человека стал Ринсулин® Р, биосимиляр (биоаналог) препарата Хумулин® Регуляр. В программу клинических исследований биосимиляров препаратов инсулина входят исследования фармакологии: фармакокинетика, фармакодинамика и исследование клинической безопасности. **Цель.** Оценка биосимилярности препаратов Ринсулин® Р (биосимиляр) и Хумулин® Регуляр (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 перекрёстное исследование сравнительной фармакокинетики и фармакодинамики препаратов. Препараты вводили подкожно в переднюю брюшную стенку в дозе 0,3 МЕ/кг однократно. Длительность забора крови для определения фармакокинетических параметров составила 10 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.** Установлено, что исследуемые препараты характеризуются высокой степенью сходства показателей фармакокинетики и фармакодинамики. 90 % доверительные интервалы для отношений средних геометрических значений первичных показателей фармакокинетики $AUC_{ins,0-t}$ и $C_{ins,max}$ полностью соответствуют допустимым пределам 80–125 % и составляют, соответственно, 88,61–111,52 и 85,41–109,51 %. 95 % доверительные интервалы для отношений средних геометрических значений первичных показателей фармакодинамики AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} полностью соответствуют допустимым пределам 80–125 % и составляют, соответственно, 93,48–112,29 и 95,75–109,17 %. Особую клиническую значимость имеют синхронное начало действия препаратов, время наступления максимального эффекта и продолжительность действия. Частота нежелательных явлений была сопоставима в группах препаратов. **Выводы.** Препараты Ринсулин® Р и Хумулин® Регуляр являются эквивалентными.

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

Для цитирования:

Майоров А.Ю., Авдеева О.И., Кокшарова Е.О., Беликова Т.М., Мишина Е.Е., Драй Р.В. Результаты двойного слепого рандомизированного сравнительного перекрёстного исследования фармакокинетики и фармакодинамики препаратов генно-инженерного инсулина человека // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 3. – С. 47–55. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10055

Results of a double-blind, randomized, comparative, cross-sectional study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of genetically engineered human insulin preparations

Mayorov AY¹, Avdeeva OI², Koksharova EO¹, Belikova TM², Mishina EE¹, Dry RB²

¹ – FSBI «National Medical Research Center for Endocrinology, Ministry of Health of Russia», Moscow

² – GEROPHARM, Sankt-Peterburg

Resume. Justification. On average, about 12 % of all global healthcare spending on diabetes. One of the first domestic human insulin preparations was Rinsulin® R, the biosimilar (bioanalog) of Humulin® Regular. The clinical research program for biosimilars of insulin preparations includes pharmacology studies: pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical safety research. **Purpose.** Evaluation of the biosimilarity of the Rinsulin® R (biosimilar) and Humulin® Regular (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, cross-sectional study of comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. The drugs were injected subcutaneously into the anterior abdominal wall at a dose of 0.3 IU / kg once. The duration of blood sampling to determine the pharmacokinetic parameters was 10 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.** It was found that the studied drugs are characterized by a high degree of similarity of pharmacokinetics and pharmacodynamics. 90 % confidence intervals for the ratios of the geometric mean values of the primary pharmacokinetics $AUC_{ins,0-t}$ and $C_{ins,max}$ fully correspond to the permissible limits of 80–125 % and are, respectively, 88.61–111.52 and 85.41–109.51 %. 95 % confidence intervals for the ratios of the geometric mean values of the primary pharmacodynamics AUC_{GIR0-t} and GIR_{max} fully correspond to the permissible limits of 80–125 % and are, respectively, 93.48–112.29 and 95.75–109.17 %. Of particular clinical significance are the synchronous onset of action of drugs, the time of onset of the maximum effect and duration of action. The frequency of adverse events was comparable in the drug groups. **Conclusions.** Rinsulin® R and Humulin® Regular are equivalent.

Keywords: genetic engineering human insulin; biosimilar; pharmacokinetics; pharmacodynamics; hyperinsulinemic euglycemic clamp

For citations:

Mayorov AY, Avdeeva OI, Koksharova EO, Belikova TM, Mishina EE, Dry RB. Results of a double-blind, randomized, comparative, cross-sectional study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of genetically engineered human insulin preparations. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;3:47–55. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10055

Введение

Сахарный диабет (СД) представляет собой серьёзнейшую медицинскую и социально-экономическую проблему во всем мире. По данным Международной Диабетической Федерации, в настоящий момент в мире около 425 млн человек страдают СД. К 2045 г. прогнозируется рост числа больных СД до 629 млн [1]. По данным Российского Федерального регистра, больных сахарным диабетом на 1 января 2019 г. зарегистрировано 4,62 млн человек с СД, за начало 2019 г. зафиксировано ещё 78,8 тыс. человек [2]. СД связан с колоссальными экономическими потерями практически во всех странах мира. Согласно исследованиям, в 2010 г. СД нанёс прямой ущерб мировой экономике в размере 376 млрд долларов США. Предполагается, что эта цифра увеличится к 2030 г. до 490 млрд. Косвенные экономические потери также весьма велики. В среднем, из всех мировых расходов на здравоохранение на СД приходится около 12 %. Экономические потери, связанные с СД, составляют в России около 3,12 млрд долларов США в год. К 2030 г. эта сумма может увеличиться до 3,35 млрд [3].

Главным направлением лечения больных с инсулинозависимым СД является заместительная инсулинотерапия, поскольку инсулин является наиболее действенным гипогликемическим агентом, применяемым в настоящее время в клинической практике. За время своего существования препараты инсулина прошли эволюцию от природного инсулина, получаемого из поджелудочной железы сельскохозяйственных животных, до рекомбинантных препаратов и аналогов человеческого инсулина, не отличающихся по степени проявления нежелательных явлений от эндогенного инсулина.

Отечественное фармацевтическое производство позволяет увеличить надёжность обеспечения больных препаратами, конкуренцию производителей и, в итоге, повысить доступность препаратов инсулина для людей, страдающих СД.

Препарат Ринсулин® Р, производства ООО «ГЕРОФАРМ» успешно применяется в Российской Федерации с 2004 г. как воспроизведенный (биосимилярный) препарата Хумулин® Регуляр [4]. За время применения не было выявлено случаев отмены или приостановки действия регистрационного удостоверения. В рамках рутинных мероприятий по фармаконадзору также не было выявлено различий между препаратами.

Однако, в связи с изменением нормативных требований [5–12] к программе доказательства биосимилярности препаратов инсулина, были проведены дополнительные сравнительные исследования, в том числе исследование клинической фармакологии. Золотым стандартом исследования клинической фармакологии инсулинов является метод гиперинсулинемического эугликемического клэмп (ГЭК), рекомендуемый

действующими нормативными стандартами [5, 11, 12]. Использование данного метода позволяет оценить как фармакокинетические (ФК), так и фармакодинамические (ФД) профили инсулинов и сделать вывод о подобии (биосимилярности) сравниваемых препаратов или выявить различия.

Благодаря этому, ГЭК отводят основную роль в программе доказательства биосимилярности [5, 6] как наиболее чувствительному методу сравнения ФК/ФД профилей [13, 14]. При этом полученные данные о сравнительной фармакологии тестируемого препарата (ТП) и препарата сравнения (ПС) могут служить подтверждением и их терапевтической эквивалентности, так как ФД показатель скорость инфузии глюкозы (СИГ) является принятым суррогатным маркером, который прямо измеряет эффект инсулина, заключающийся в утилизации экзогенно вводимой глюкозы [14]. Таким образом, проводить отдельные исследования эффективности при изучении биосимилярности 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 [5, 6, 11, 12].

Цель исследования. Доказательство биосимилярности препаратов Ринсулин® Р, раствор для инъекций, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумулин® Регуляр, раствор для инъекций, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) в условиях ГЭК на здоровых добровольцах.

Материалы и методы

В качестве дизайна исследования было выбрано двойное слепое рандомизированное перекрёстное исследование сравнительной ФК и ФД ТП Ринсулин® Р (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и ПС Хумулин® Регуляр («Лилли Франс», Франция).

В соответствии с нормативными рекомендациями [5, 11], 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/м² 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 СД у ближайших родственников; уровень глюкозы в плазме натощак $\geq 6,1$ ммоль/л; уровень $HbA_{1c} > 6\%$; пероральный глюкозотолерантный тест – уровень глюкозы в крови $\geq 7,8$ ммоль/л (через 2 ч после нагрузки глюкозой).

Исследование было проведено на базе клинического центра ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Для участия в исследовании были привлечены здоровые

добровольцы из базы данных добровольцев исследовательского центра.

Длительность исследования для каждого добровольца не превысила 43 дней. Общая продолжительность исследования составила 2,5 мес. (с 19.02.2018 по 04.05.2018 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, температуры тела). 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, см. визит 3), допускали к проведению исследовательских периодов ГЭК. В периоде I ГЭК (Визит 2) проводили рандомизацию добровольцев в одну из двух исследуемых групп; за исключением этого, период I ГЭК (Визит 2) и период II ГЭК (Визит 4) проходили аналогично. 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).

Утром перед началом проведения процедур ГЭК проводили обследование в рамках изучения безопасности ИП согласно протоколу (физикальный осмотр, оценка жизненно важных показателей). Также проводили забор крови на ФК и определения базального уровня глюкозы в крови.

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. При соответствии уровня глюкозы в крови целевому диапазону (4,4–5,6 ммоль/л) в течение 2 часов до инъекции ИП такого добровольца подвергали процедуре ГЭК. Если уровень глюкозы в крови находился за пределами этих границ, исследователь мог перенести ГЭК для данного участника на другой день.

С целью снижения возможной необъективности исследователя ИП поступал в клинический центр в одинаковых упаковках разослепленной команде, основной обязанностью которых, помимо прочего, была подготовка ИП перед введением субъекту исследования. Приготовление осуществляли за определённое время до инъекции в соответствии с предоставленными инструкциями. После этого ИП в инсулиновом шприце передавали заслепленной команде для осуществления инъекции. ИП вводили непосредственно перед ГЭК в

дозе 0,3 МЕ/кг [5, 11, 12] однократно подкожно в область подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки.

После инъекции ИП начинали контролировать уровень глюкозы в крови. За начало действия ИП принимали снижение уровня глюкозы в крови на величину более 5 % от изначальной величины. После 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 скорости инфузии глюкозы (СИГ) производили каждые 5 мин в течение первых 8 часов, далее до 10 часов – каждые 10 мин.

Визит 3 – сокращённый 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 медицинского анамнеза и подписания информированного согласия.

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 ФК показатели ИП: суммарная площадь под кривой (AUC) «концентрация исследуемого инсулина – время» в интервале времени от 0 до момента t отбора последней пробы биоматериала с определяемой концентрации активного вещества ($AUC_{ins,0-t}$), максимальная концентрация инсулина в крови за период наблюдения ($C_{ins,max}$), и ФД показатели ИП: суммарная площадь под кривой (AUC) «СИГ–время» в интервале времени от 0 до момента t отбора последней пробы биоматериала (AUC_{GIR0-t}), максимальная СИГ за период исследования (GIR_{max}).

Вторичными конечными точками в настоящем исследовании являлись ФК показатели ИП: $AUC_{ins,0-2}$; $AUC_{ins,0-4}$; $AUC_{ins,0-6}$; время достижения максимальной концентрации инсулина – t_{max} ; период полувыведения инсулина – $t_{1/2}$; а также следующие ФД показатели: AUC_{GIR0-2} ; AUC_{GIR0-4} ; AUC_{GIR0-6} ; время достижения максимальной СИГ – $tGIR_{max}$; 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 тела; частота возникновения местных реакций в месте инъекции; отклонение 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® Р и Хумулин® Регуляр, соответственно.

Каждому добровольцу вводили ТП и ПС (в разные периоды ГЭК). С целью исключения предвзятости и иных факторов, влияющих на получаемые данные, а также формирования однородных групп, добровольцы после прохождения скрининга были рандомизированы в соотношении 1:1. Для создания рандомизационной последовательности использованы стандартные функции программного обеспечения R 3.4.2. 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 ФК отбор крови для определения концентрации инсулина в крови производили за –60 и –30 мин, непосредственно до введения ИП и после введения ИП по следующей схеме: первые 3 часа отбор осуществляли каждые 15 мин, затем до конца исследования – каждые 30 мин. Общая продолжительность наблюдения составила 10 ч.

Для подтверждения угнетения выработки собственного инсулина осуществляли отбор образцов плазмы для определения концентрации С-пептида в точках отбора крови для определения концентрации инсулина.

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 не выше –20 оС. Анализ выполнен на автоматическом иммуноферментном анализаторе Personal Lab, производства Adaltis S.r.l., Италия.

Фармакодинамика. Количественное определение уровня глюкозы в крови в период ГЭК производили в образцах цельной венозной крови с помощью откалиброванных глюкометров StatStrip Glucose and β -Ketone Hospital Meter производства Nova Biomedical, США [15, 16].

До начала процедур исследования каждый доброволец подписал информированное согласие. 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 №124 от 19.02.2016), а также независимым этическим комитетом при клиническом центре ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка протокола № 15 от 28.08.2017).

Принципы расчёта размера выборки. Ввиду того, что первичной целью исследования являлось сравнение

ФК и ФД свойств препаратов Ринсулин® Р и Хумулин® Регуляр у здоровых добровольцев, для расчёта размера выборки были использованы данные по среднему значению и стандартному отклонению первичных ФК показателей $AUC_{ins.0-t}$ и $C_{ins.max}$ и ФД показателей AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} [17]. Расчёт размера выборки был выполнен для более вариабельного показателя.

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.

Статистический анализ выполнен в предположении о лог-нормальном распределении основных ФК и ФД параметров. Сравнение средних значений параметров для ТП и ПС проводили на основе мультипликативной модели, а доверительные интервалы строили для отношений соответствующих средних геометрических значений.

После проведения логарифмического преобразования исследуемые показатели анализировали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Дисперсионный анализ применяли для проверки гипотез о статистической значимости вклада различных факторов (различия между препаратами, различия между испытуемыми, последовательность введения препаратов, периоды исследования) в наблюдаемую вариабельность. Полученная с помощью дисперсионного анализа оценка остаточной вариации использована при расчёте доверительного интервала для отношения средних геометрических значений соответствующего параметра.

Процедура статистического сравнения состояла в вычислении параметрических двусторонних 90 % доверительных интервалов для ФК параметров и 95 % доверительных интервалов для ФД параметров для отношений соответствующих геометрических средних ТП и ПС.

Согласно регламентирующим стандартам, препараты считались эквивалентными, если 90 % доверительные интервалы для геометрических средних, вычисленных для индивидуальных отношений логарифмически преобразованных значений $AUC_{ins.0-t}$ и $C_{ins.max}$, и 95 % доверительные интервалы для геометрических средних, вычисленных для индивидуальных отношений логарифмически преобразованных значений AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} , находились в пределах 80,00–125,00 % (0,80–1,25) [5, 11, 12].

Вторичные ФК параметры ($AUC_{ins.0-2}$, $AUC_{ins.0-4}$, $AUC_{ins.0-6}$, $t_{1/2}$, t_{max}) и ФД параметры (AUC_{GIR0-2} , AUC_{GIR0-4} , AUC_{GIR0-6} , $tGIR_{max}$, $tGIR_{lag}$) анализировали с помощью показателей описательной статистики.

Анализ нежелательных явлений проведён в виде описания случаев, а также градации их по степени тяжести и причинно-следственной связи с введением препаратов.

Результаты и их обсуждение

После прохождения скрининга в исследование было включено 20 здоровых добровольцев, соответствующих

критериям включения/невключения. Характеристика добровольцев представлена в табл. 1. Все субъекты закончили исследование в соответствии с протоколом, ни один субъект не исключён из анализа ФК и ФД свойств ИП.

Таблица 1

Демографическая и антропометрическая информация обо всех рандомизированных субъектах (среднее ± стандартное отклонение, n = 20)

Показатель	Значения
Возраст (лет)	28,65 ± 5,40
Масса тела (кг)	77,45 ± 9,98
Рост (см)	180,95 ± 7,39
ИМТ (кг/м ²)	23,65 ± 2,75

Были рассчитаны показатели, подтверждающие качество ГЭК, основанные на результатах измерения уровня глюкозы в крови в течение ГЭК. Полученные результаты подтверждают удовлетворительное качество проведенных ГЭК (табл. 2).

На рис. 1 и в табл. 3 представлены усреднённые ФК кривые «концентрация–время» ТП и ПС в плазме добровольцев. Отмечена сопоставимость основных ФК характеристик. Так, C_{ins.max} составила 155,02 ± 74,34 и 153,74 ± 60,43 мкМЕ/мл, а AUC_{ins.0-t} – 605,09 ± 217,82 и 611,99 ± 242,89 (мкМЕ/мл) × ч, соответственно.

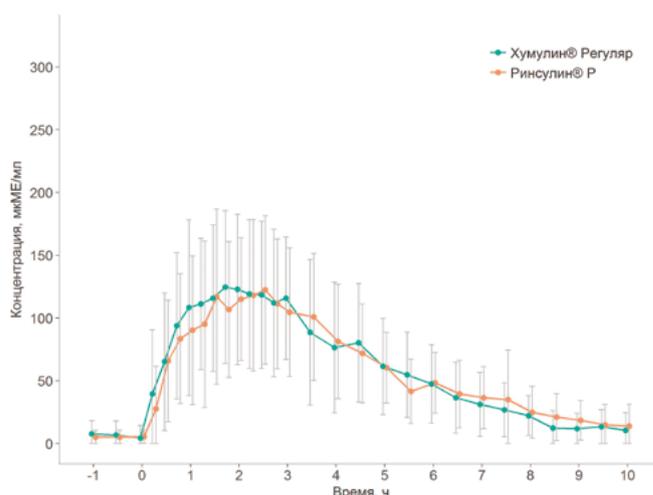


Рис. 1. Усреднённые фармакокинетические профили концентрации инсулина в плазме участников после подкожного введения тестируемого препарата Ринсулин® Р и препарата сравнения Хумулин® Регуляр (n = 20)

Точечные оценки индивидуальных отношений AUC_{ins.0-t} (ТП)/ AUC_{ins.0-t} (ПС) составила 99 %, а C_{ins.max} (ТП)/ C_{ins.max} (ПС) – 97 %. 90 % доверительные интервалы для геометрических средних отношений составили, соответственно, 88,61–111,52 % и 85,41–109,51 %, что находится в рамках допустимого диапазона (80,00–125,00 %).

Таблица 2

Параметры качества гиперинсулинемического эугликемического клэмп (среднее ± стандартное отклонение, n = 20)

Параметр	Ринсулин® Р	Хумулин® Регуляр
CV, %	6,07 ± 0,81	5,98 ± 0,80
Средний уровень удержания глюкозы, ммоль/л	4,99 ± 0,04	4,99 ± 0,05
Отклонение уровня глюкозы от цели, ммоль/л	0,26 ± 0,04	0,25 ± 0,04
Отклонение уровня глюкозы от допустимых границ, ммоль/л	0,0020 ± 0,0070	0,0005 ± 0,0022

Примечания: CV – коэффициент вариации, рассчитан как SD (глюкозы плазмы ммоль/л)/ mean (глюкозы плазмы ммоль/л); отклонение уровня глюкозы от цели, ммоль/л – отклонение уровня глюкозы от целевого уровня 5,6 ммоль/л, рассчитано как mean| 5,6 – x_i |, где x_i – результат измерения глюкозы плазмы в каждый момент времени; отклонение уровня глюкозы от допустимых границ, ммоль/л – отклонение уровня глюкозы от допустимых границ 5,04–6,16 ммоль/л (5,6 ± 0,56 ммоль/л), рассчитано как l_i = | 5,04 – x_i |, u_i = | 6,16 – x_i | (расстояние до нижней и верхней границы, соответственно), где x_i – результат измерения глюкозы плазмы в каждый момент времени, тогда расчётная величина равна mean (z_i, t_i).

Таблица 3

Фармакокинетические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности

Параметры	N	Ринсулин® Р (ТП) ¹	N	Хумулин® Регуляр (ПС) ¹	Отношение ТП/ПС [90 % ДИ] ²
C _{ins.max} , мкМЕ/мл	20	155,02 ± 74,34	20	153,74 ± 60,43	0,97 [85,41; 109,51]
AUC _{ins.0-t} ³ , (мкМЕ/мл) × ч	20	605,09 ± 217,82	20	611,99 ± 242,89	0,99 [88,61; 111,52]
AUC _{ins.0-2} ³ , (мкМЕ/мл) × ч	20	161,78 ± 88,29	20	180,73 ± 89,69	
AUC _{ins.0-4} ³ , (мкМЕ/мл) × ч	20	374,38 ± 156,17	20	390,51 ± 162,61	
AUC _{ins.0-6} ³ , (мкМЕ/мл) × ч	20	494,00 ± 184,55	20	519,86 ± 210,28	
t _{max} ³ , ч	20	2,74 ± 1,49	20	2,50 ± 1,57	
t _{1/2} ³ , ч	20	2,53 ± 3,12	193	1,76 ± 0,72	

Примечания: ¹ – результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение; ² – представлено отношение геометрических средних, для отношения ФК параметров приведен 90 % ДИ; ³ – поскольку для вычисления t_{1/2} требуется не менее 3 ненулевых убывающих точек, то для субъектов, у которых отсутствовали таковые, t_{1/2} не рассчитывали.

Эти данные в совокупности с характеристиками кривых «концентрация – время» свидетельствуют о сопоставимости ФК ИП.

На рис. 2 и в табл. 4 представлены усреднённые ФД кривые «СИГ–время». Зафиксирована сопоставимость параметров действия ТП и ПС у здоровых добровольцев. Так, время между введением ИП и началом инфузии глюкозы ($tGIR_{lag}$) составило $25,8 \pm 12,6$ и $27,0 \pm 13,2$ мин, соответственно. Площади под кривыми

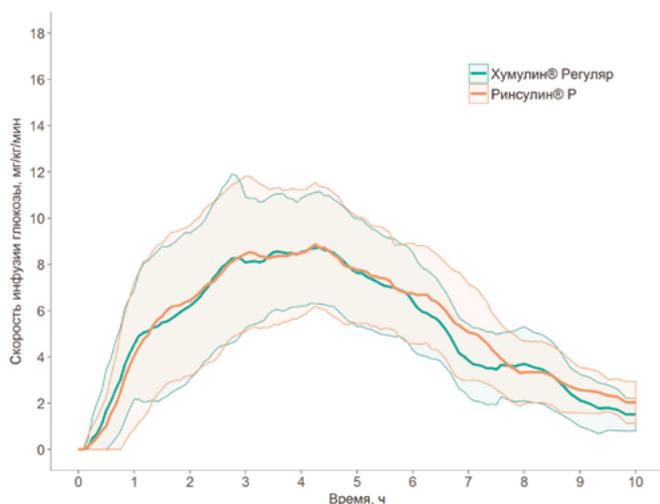


Рис. 2. Усреднённые фармакодинамические кривые «скорость инфузии глюкозы – время» после подкожной инъекции тестируемого препарата Ринсулин® Р и препарата сравнения Хумулин® Регуляр ($n = 20$)

AUC_{GIR0-t} составили $53,85 \pm 15,98$ и $51,98 \pm 13,77$ (мг/кг) $\times 60$, а максимальные СИГ GIR_{max} $10,11 \pm 2,78$ и $9,99 \pm 3,16$ мг/кг/мин, соответственно. Точечные оценки индивидуальных отношений AUC_{GIR0-t} (ТП)/ AUC_{GIR0-t} (ПС) и GIR_{max} (ТП)/ GIR_{max} (ПС) составили 102 % для обоих параметров. 95 % доверительные интервалы для геометрических средних отношений составили, соответственно, 93,48–112,29 % и 95,75–109,17 %, что находится в рамках допустимого диапазона (80,00–125,00 %). Значения коэффициентов внутрииндивидуальной вариабельности ФД параметров AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} составили, соответственно, 13,86 и 9,89 %. Эти данные в совокупности с характеристиками кривых «СИГ–время» свидетельствуют о сопоставимости ФД эффектов ИП.

Сводная информация по НЯ представлена в табл. 5. В ходе проведения исследования серьёзных НЯ не наблюдалось. Ни один из испытуемых не прекратил участие в исследовании по причине развития нежелательного явления.

У 2 добровольцев (10 %) в группе ТП было зарегистрировано 2 НЯ: 1 НЯ было определено врачами-исследователями как имеющее возможную связь с введением ИП и 1 НЯ – как вероятную.

У 2 добровольцев (10 %) в группе ПС было зарегистрировано 2 НЯ: 1 НЯ было определено врачами-исследователями как не имеющее связи с введением ИП и 1 НЯ как имеющее вероятную связь.

Частота выявленных нежелательных явлений была одинакова в сравниваемых группах.

Таблица 4

Фармакодинамические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности ($n = 20$)

Показатели	Ринсулин® Р (ТП) ¹	Хумулин® Регуляр (ПС) ¹	Отношение ТП/ПС [95 % ДИ] ²
AUC_{GIR0-t} , мг/кг $\times 60$	$53,85 \pm 15,98$	$51,98 \pm 13,77$	1,02 [93,48; 112,29]
GIR_{max} , мг/кг/мин	$10,11 \pm 2,78$	$9,99 \pm 3,16$	1,02 [95,75; 109,17]
AUC_{GIR0-2} , мг/кг $\times 60$	$7,06 \pm 4,28$	$7,29 \pm 4,32$	
AUC_{GIR0-4} , мг/кг $\times 60$	$22,96 \pm 9,98$	$23,12 \pm 9,63$	
AUC_{GIR0-6} , мг/кг $\times 60$	$38,63 \pm 13,86$	$38,64 \pm 13,08$	
$tGIR_{max}$, ч	$4,09 \pm 1,16$	$4,09 \pm 1,31$	
$tGIR_{lag}$, мин	$25,8 \pm 12,6$	$27,0 \pm 13,2$	

Примечания: ¹ – результаты представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение; ² – представлено отношение геометрических средних, для отношения ФД параметров приведен 95 % доверительный интервал (ДИ).

Таблица 5

Нежелательные явления

	Ринсулин® Р ($n = 20$)			Хумулин® Регуляр ($n = 20$)		
	Количество субъектов (%)	Степень НЯ	Количество случаев	Количество субъектов (%)	Степень НЯ	Количество случаев
Нежелательные явления	2 (10,0)	Лёгкая	2	2 (10,0)	Лёгкая	2
		Средняя	0		Средняя	0
		Тяжёлая	0		Тяжёлая	0
		Всего	2		Всего	2

В настоящем исследовании были зафиксированы следующие виды НЯ:

- Связанные с введением ИП:

«Повышение активности КФК» (1 случай у 1 участника в группе ТП);

«Гипербилирубинемия» (2 случая у 2 участников по одному в каждой группе).

- Не связанные с введением ИП:

«Геморрагическая анемия» (1 случай у 1 участника в группе ПС).

Все НЯ были оценены врачами-исследователями как несерьёзные, полностью обратимые, лёгкой степени тяжести. Все НЯ завершились выздоровлением без применения медикаментозной терапии.

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 отклонений в рамках НЯ). Уровень ионов калия в крови оставался стабильным в течение исследования. Местных реакций на введение ИП не обнаружено.

В соответствии с регуляторными требованиями [5, 6, 11, 12] статистическая оценка эквивалентности ИП была проведена на основании укладывания 90 % доверительных интервалов отношений первичных ФК конечных точек ТП к ПС и 95 % доверительных интервалов отношений первичных ФД параметров 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 доверительные интервалы для логарифмически преобразованных отношений значений параметра $C_{ins,max}$ составил 85,41–109,51 %, $AUC_{ins,0-t}$ – 88,61–111,52 %, GIR_{max} – 95,75–109,17 % и AUC_{GIR0-t} – 93,48–112,29 %. Это подтверждает высокое подобие ТП Ринсулин® Р оригинальному препарату.

При выполнении дисперсионного анализа ФК параметров $AUC_{ins,0-t}$ и $C_{ins,max}$ (логарифмически преобразованные данные) установлено, что значимый вклад в наблюдаемую вариабельность данных внесли факторы «Последовательность» (p -value = 0,00242 и 0,00004, соответственно) и «Субъект» (p -value < 0,00001), вклад остальных факторов («Период» и «Препарат») был статистически незначимым (p -value > 0,05). При этом были получены значения остаточной вариации, равные 0,04396 и 0,05137 для $AUC_{ins,0-t}$ и $C_{ins,max}$, соответственно, которые в дальнейшем были использованы при расчёте доверительных интервалов для отношений средних значений рассматриваемых параметров.

При выполнении дисперсионного анализа ФД параметров AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} (логарифмически преобразованные данные) установлено, что значимый вклад в наблюдаемую вариабельность данных внес

фактор «Субъект» (p -value ≤ 0,00001), а для параметра GIR_{max} также «Последовательность» (p -value = 0,00908), вклад остальных факторов («Период» и «Препарат», а для параметра AUC_{GIR0-t} и «Последовательность») был статистически незначимым (p -value > 0,05). При этом получены значения остаточной вариации, равные 0,01903 и 0,00974, соответственно, для AUC_{GIR0-t} и GIR_{max} , которые в дальнейшем были использованы при расчёте доверительных интервалов для отношений средних значений рассматриваемых параметров.

Считается, что при относительно коротком промежутке между введениями препаратов и при адекватном периоде «отмывки» (значительно превышает период полувыведения препарата, который для человеческого инсулина составляет несколько минут, а продолжительность действия не более 8 ч), выявляемый статистически значимый фактор «Последовательность» является, скорее всего, как и фактор «Субъект», частью межиндивидуальной вариабельности (случайная рандомизация субъектов в две последовательности), и не влияет на оценку доверительного интервала, основанного на остаточной внутрииндивидуальной вариации, а значит и на вывод о биосимилярности препаратов.

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

Качество проведённого ГЭК, определённого по степени подавления секреции собственного инсулина и уровню удержания нормогликемии в течение ГЭК, было удовлетворительным и сопоставимым между группами.

Ограничения исследования. При использовании популяции здоровых волонтеров было минимизировано влияние факторов сопутствующих заболеваний на показатели концентрации инсулина и глюкозы в плазме. Тем не менее, полученные данные на однородной выборке без сопутствующих факторов искажения можно экстраполировать на всю популяцию пациентов с СД.

Выводы

На основании проведённого двойного слепого рандомизированного сравнительного перекрестного исследования ФК и ФД препаратов Ринсулин® Р, раствор для инъекций, 100 МЕ/мл (ООО «ГЕРОФАРМ», Россия) и Хумулин® Регуляр, раствор для инъекций, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмпа на здоровых добровольцах ТП Ринсулин® Р и ПС Хумулин® Регуляр являются эквивалентными.

Сходность фармакологических (ФК/ФД) характеристик данных типов инсулинов позволяет экстраполировать эффективность референтного препарата Хумулин® Регуляр, раствор для инъекций, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) на ТП Ринсулин® Р, раствор для инъекций, 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.

Майоров А.Ю., Кокшарова Е.О., Мишина Е.Е. являются представителями клинического центра, проводившего описываемое клиническое исследование при финансовой поддержке ГК «ГЕРОФАРМ». Драй Р.В., Авдеева О.И., Беликова Т.М. являются сотрудниками ГК «ГЕРОФАРМ».

Выражение признательности.

Авторы выражают признательность сотрудникам аналитической лаборатории ООО «Квинта-Аналитика Ярославль», специалисту по биомедицинской статистике Севастьяновой Юлии Александровне, руководителю проекта Афонькиной Олене Валерьевне, а также редакции журнала «Фармакокинетика и фармакодинамика».

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Mayorov Alexander

ORCID ID: 000-0001-5825-3287

SPIN-code: 4275-7779

PhD, 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

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 ГК «ГЕРОФАРМ»

Avdeeva Olga

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

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

Беликова Татьяна Михайловна

ORCID ID: 0000-0002-9865-6387

SPIN-код: 4450-8633

руководитель отдела клинических операций ГК «ГЕРОФАРМ»

Belikova Tatyana

ORCID ID: 0000-0002-9865-6387

SPIN-code: 4450-8633

руководитель отдела клинических операций ГК «ГЕРОФАРМ»

Мишина Екатерина Евгеньевна

ORCID ID: 0000-0002-5371-8708

SPIN-код: 2115-7697

н. с. лаборатории клэмп-технологий Института диабета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России

Mishina Ekaterina

ORCID ID: 0000-0002-5371-8708

SPIN-code: 2115-7697

researcher, Laboratory of Clamp Technologies, Institute of Diabetes, National Medical Research Center for Endocrinology, Ministry of Health of Russia

Драй Роман Васильевич

ORCID ID: 0000-0003-4594-6097

SPIN-код: 5271-0404

к. м. н., директор R&D ГК «ГЕРОФАРМ»

Bochkov Pavel

ORCID ID: 0000-0003-4594-6097

SPIN-code: 5271-0404

к. м. н., директор R&D ГК «ГЕРОФАРМ»

Литература / References

1. Diabetes Atlas. IDF, 2017.
2. Федеральный регистр больных сахарным диабетом. [Federal'nyj registr bol'nyh saharnym diabetom. [Internet] (In Russ.)] URL: <http://diaregistry.ru> (дата обращения 03.2019).
3. King P, Peacock I, Donnelly R. The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *British journal of clinical pharmacology*. 1999;48(5):643–648.
4. Демидов Н.А., Мишра О.А. Эффективность и безопасность использования Ринсулина Р и Ринсулина НПХ в условиях амбулаторной практики // *ПМЖ*. – 2016. – № 12. – С. 782–785. [Demidov NA, Mishra OA. Effektivnost' i bezopasnost' ispol'zovaniya Rinsulina R i Rinsulina NPH v usloviyah ambulatornojpraktiki. *RMJ*. 2016;12:782–785. (In Russ).]
5. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues (ЕМЕА/СНМР/ВМWP/32775/2005_Rev. 1).
6. Guideline on similar biological medicinal products (СНМР/437/04 Rev. 1).
7. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (ЕМЕА/СНМР/ВМWP/42832/2005 Rev. 1).
8. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins (ЕМЕА/СНМР/ 89249/2004).
9. Guideline on the investigation of bioequivalence (СРМР/ЕWР/QWP/1401/98).
10. Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins (ЕМЕА/СНМР/ВМWP/14327/2006).
11. 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) lekarstvennykh preparatov, soderzhashchih rekombinantnyj insulin i analogi insulina". (In Russ).]
12. 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).]
13. 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
14. 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):962–972. DOI: 10.1111/dom.12703
15. 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):1195–1201. DOI: 10.1177/193229681000400519
16. 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.
17. Heinemann L, Weyer C, Rauhaus M, et al. Variability of the metabolic effect of soluble insulin and the rapid-acting insulin analog insulin aspart. *Diabetes Care*. 1998;21(11):1910–1914. DOI: 10.2337/diacare.21.11.1910



Издательство ОКИ

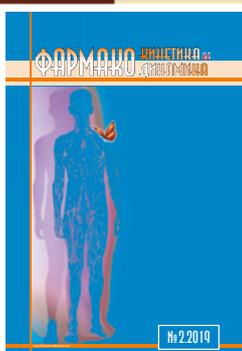
ООО «Издательство ОКИ» выпускает 4 периодических научных специализированных медико-фармацевтических журналов, предназначенных для врачей, провизоров, фармацевтов, специалистов НИИ, преподавателей и студентов медицинских и фармацевтических ВУЗов, организаторов здравоохранения, клинических исследователей, фармакологов, сотрудников фармацевтических компаний, служащих регулирующих органов, членов Комитетов по Этике.

Сайт издательства: www.izdat-ok.ru



Журнал «Качественная клиническая практика» публикует материалы по планированию и проведению клинических исследований лекарственных средств, фармакоэкономике, фармакоэпидемиологии, биомедицинской этике, фармаконадзору, которые используются в преподавательской работе во многих медицинских ВУЗах.

Сайт журнала: www.clinvest.ru



Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» освещает фундаментальные и прикладные аспекты доклинических и клинических исследований фармакокинетики, в частности терапевтического лекарственного мониторинга, фармакодинамического и биофармацевтического изучения препаратов, их взаимодействия, оценки их биодоступности и биоэквивалентности.

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



Журнал «Фармакогенетика и фармакогеномика» публикует оригинальные статьи о проведённых клинических, клинико-экспериментальных и фундаментальных научных работах, обзоры, лекции, описания клинических случаев, а также вспомогательные материалы по всем актуальным проблемам персонализированной медицины

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru



Журнал «Антибиотики и химиотерапия» освещает проблемы поиска и получения новых антибиотиков, ферментов, биологически активных веществ, а также вопросы экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций.

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru

**Тел.: +7 (910) 449-22-73;
e-mail: clinvest@mail.ru**



Предлагаем Вашему вниманию полноцветное качественное издание **«Включение лекарственных препаратов в ограничительные перечни: пошаговый алгоритм»** под общей редакцией Белоусова Д.Ю., Зырянова С.К., Колбина А.С., в соавторстве с Карповым О.И., Чебердой А.Е., Балыкиной Ю.Е.

О ЧЁМ ЭТА КНИГА?

Это невероятно полезный и компактный ресурс по подготовке Предложения на включение в ограничительные Перечни лекарственных препаратов. После прочтения этой книги процесс включения в Перечни сложится из разрозненных пазлов в единую картину.

Почему она достойна вашего внимания?

На страницах книги авторы профессионально, шаг за шагом, подробно и доходчиво объясняют методы сбора доказательной базы, рассказывают о методологии проведения сравнительной оценки эффективности и безопасности, клинико-экономических исследований и анализа влияния на бюджет, современных рекомендациях по подготовке Предложения на включение в ограничительные Перечни.

Кому следует её приобрести?

Издание предназначено для специалистов в области фармакоэкономики, оценки технологий здравоохранения, лекарственного обеспечения, внедрения лекарственных препаратов на российский фармацевтический рынок.

Приобрести книгу можно по:
тел. +7 (910) 449-22-73 или e-mail: eva88@list.ru

Выходные данные: Включение лекарственных препаратов в ограничительные перечни: пошаговый алгоритм / под общ. ред. Белоусова Д. Ю., Зырянова С. К., Колбина А. С. — М. : Издательство ОКИ : Буки Веди, 2019. — 252 с. : ил.
ISBN 978-5-4465-2555-3