

КЛИНИЧЕСКОЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВО БИОСИМИЛЯРНОСТИ ПРЕПАРАТОВ РИНСУЛИН® НПХ (ООО «ГЕРОФАРМ», РОССИЯ) И ХУМУЛИН® НПХ («ЛИЛЛИ ФРАНС», ФРАНЦИЯ) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ЭУГЛИКЕМИЧЕСКОГО ГИПЕРИНСУЛИНЕМИЧЕСКОГО КЛЭМПА НА ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦАХ

НОСКОВ СЕРГЕЙ МИХАЙЛОВИЧ, докт. мед. наук, профессор, научный консультант ГАУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3», Россия, 150007, Ярославль, ул. Маяковского, 61

НАГИБИН РОМАН МИХАЙЛОВИЧ, канд. мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии Ярославского государственного медицинского университета, Россия, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5

ЛУЦКОВА ЛЮДМИЛА НИКОЛАЕВНА, канд. мед. наук, ассистент кафедры госпитальной терапии Ярославского государственного медицинского университета, Россия, 150000, Ярославль, ул. Революционная, 5

ДРАЙ РОМАН ВАСИЛЬЕВИЧ, ORCID: 0000-0003-4594-6097; канд. мед. наук, директор R&D ГК «Герофарм», Россия, 191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., 11б, e-mail: roman.drai@geropharm.com

АВДЕЕВА ОЛЬГА ИЛЬИНИЧНА, ORCID: 0000-0002-6759-4283; канд. фарм. наук, медицинский писатель департамента клинических исследований ГК «Герофарм», Россия, 191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., 11б, e-mail: olga.avdeeva@geropharm.com

МАКАРЕНКО ИГОРЬ ЕВГЕНЬЕВИЧ, ORCID: 0000-0003-2308-0608; канд. мед. наук, руководитель отдела фармакологии и ранних фаз клинических исследований ГК «Герофарм», Россия, 191144, Санкт-Петербург, Дегтярный пер., 11б, e-mail: igor.makarenko@geropharm.com

Реферат. Заболеваемость сахарным диабетом в мире в XXI в. приобрела пандемический характер. Инсулинотерапия является главным методом лечения сахарного диабета I типа, а также одним из важнейших средств терапии сахарного диабета II типа. Благодаря возможностям генной инженерии в 1980-е гг. начато промышленное производство инсулинов, которые по структуре и биологическим свойствам полностью идентичны панкреатическому инсулину человека. Одним из первых отечественных препаратов инсулина человека стал Ринсулин® НПХ, биоаналог препарата Хумулин® НПХ. В программу клинических исследований биоаналогов препаратов инсулина входят исследования фармакологии: фармакокинетика, фармакодинамика и исследование клинической безопасности. **Цель** – оценка биосимилярности препаратов Ринсулин® НПХ (биоаналог) и Хумулин® НПХ (оригинальный) в условиях гиперинсулинемического эугликемического клэмп на здоровых добровольцах. **Материал 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 расчета фармакодинамических параметров. **Результаты и их обсуждение.** Отмечена сопоставимость основных фармакокинетических и фармакодинамических характеристик препаратов Ринсулин® НПХ и Хумулин® НПХ в условиях гиперинсулинемического эугликемического клэмп на здоровых добровольцах. Доверительный интервал для логарифмически преобразованного отношения значений параметра $C_{ins,max}$ составил 85,02–111,29%, а $AUC_{ins,0-12}$ – 88,10–118,66%, что попадает в заданные нормативными документами границы 80–125% для установления сопоставимости между препаратами. Это подтверждает высокое подобие воспроизведенного препарата Ринсулин® НПХ оригинальному препарату. Особую клиническую значимость имеет синхронное начало действия препаратов, время наступления максимального эффекта и продолжительность действия. Нежелательных явлений в исследовании не зафиксировано. **Выводы.** На основании проведенного клинического исследования с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмп на здоровых добровольцах препараты Ринсулин® НПХ и Хумулин® НПХ являются эквивалентными.

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

Для ссылки: Клиническое доказательство биосимилярности препаратов Ринсулин® НПХ (ООО «Герофарм», Россия) и Хумулин® НПХ («Лилли Франс», Франция) с использованием метода эугликемического гиперинсулинемического клэмп на здоровых добровольцах / С.М. Носков, Р.М. Нагибин, Л.Н. Луцкова [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2019. – Т. 12, вып. 2. – С.45–53. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(2).45-53.

CLINICAL EVIDENCE OF BIOSIMILARITY OF RINSULIN® NPH (GEROPHARM, RUSSIA) AND HUMULIN® NPH (ELI LILLY, FRANCE) MEDICATIONS BY HYPERINSULINEMIC EUGLYCEMIC CLAMP PERFORMANCE IN HEALTHY VOLUNTEERS

NOSKOV SERGEY M., D. Med. Sci., professor, scientific consultant of Clinical Hospital № 3, Russia, 150007, Yaroslavl, Mayakovsky str., 61, e-mail: noskov03@gmail.com

NAGIBIN ROMAN M., C. Med. Sci., assistant of professor of the Department of internal medicine of Yaroslavl State Medical University, Russia, 150000, Yaroslavl, Revolutsionnaya str., 5, e-mail: nagibinrm@gmail.com

LUTSKOVA LYUDMILA N., C. Med. Sci., assistant of professor of the Department of internal medicine of Yaroslavl State Medical University, Russia, 150000, Yaroslavl, Revolutsionnaya str., 5, e-mail: lluckova@yandex.ru

DRAI ROMAN V., ORCID: 0000-0003-4594-6097; C. Med. Sci., Director of «Geropharm», Russia, 191144, St. Petersburg, Degtyarny lane, 11b, e-mail: roman.drai@geropharm.com

ANDEEVA OLGA I., ORCID: 0000-0002-6759-4283; C. Pharm. Sci., medical writer of the Department of clinical trial of «Geropharm», Russia, 191144, St. Petersburg, Degtyarny lane, 11b, e-mail: olga.avdeeva@geropharm.com

MAKARENKO IGOR E., ORCID: 0000-0003-2308-0608; C. Med. Sci., the Head of the Department of pharmacology and early phase clinical trials of «Geropharm», Russia, 191144, St. Petersburg, Degtyarny lane, 11b, e-mail: igor.makarenko@geropharm.com

Abstract. Global incidence of diabetes in the 21st century has become pandemic. Insulin therapy is the main treatment for type I diabetes, as well as the one of the most important treatment options for type II diabetes. Due to the progress in genetic engineering in the eighties, manufacturing of the insulins, which are completely identical in structure and biological properties to human pancreatic insulin, has started. One of the first medications of human insulin manufactured in Russia was Rinsulin® NPH, which is biosimilar to Humulin® NPH medication. The program of clinical trials of biosimilar insulin medications includes pharmacological studies of pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical safety evaluation. **Aim.** Rinsulin® NPH (bioanalogue) and Humulin® NPH medication (original) biosimilarity evaluation was performed in conditions of hyperinsulinemic euglycemic clamp in healthy volunteers. **Material and methods.** The study was conducted on healthy male volunteers aged from 18 to 50 years. The study design is a double-blind, randomized, crossover study of comparative drug pharmacokinetics. The drugs were injected subcutaneously into the anterior abdominal wall at a dose of 0,4 IU/kg once. Duration of blood sampling performed to determine the pharmacokinetic parameters was 24 hours. Blood insulin was determined via enzyme immunoassay. Glucose infusion rate was adjusted according to glycemic level, the data of which were used to calculate the pharmacodynamic parameters. **Results and discussion.** Comparability of the main pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of Rinsulin® NPH and Humulin® NPH medications was noted in conditions of hyperinsulinemic euglycemic clamp in healthy volunteers. The confidence interval for the logarithmically transformed ratio of $C_{ins,max}$ parameter values was 85,02–111,29%, and $AUC_{ins,0-12}$ – 88,10–118,66%, which compiles within 80–125% limits specified by the regulatory documents on drug comparability establishment. This confirms the high similarity of the reproduced Rinsulin® NPH drug to the original medication. Of particular clinical significance is synchronous onset of drug action, the time of the maximum effect onset and the duration of action. Adverse reactions were not recorded in terms of the study. **Conclusion.** According to the clinical study using the method of hyperinsulinemic euglycemic clamp in healthy volunteers, Rinsulin® NPH and Humulin® NPH can be considered equivalent.

Key words: genetically engineered human insulin; biosimilar; pharmacokinetics; pharmacodynamics; hyperinsulinemic euglycemic clamp.

For reference: Noskov SM, Nagibin RM, Lutskova LN, Drai RV, Avdeeva OI, Makarenko IE. Clinical evidence of biosimilarity of Rinsulin® NPH (Geropharm, Russia) and Humulin® NPH (Eli Lilly, France) medications by hyperinsulinemic euglycemic clamp performance in healthy volunteers. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2019; 12 (2): 45–53. DOI:10.20969/VSKM.2019.12(2).45-53.

Введение. Заболеваемость сахарным диабетом (СД) в мире в XXI в. приобрела пандемический характер, что побуждает мировое медицинское сообщество объединять усилия в создании национальных стратегий в области диагностики, лечения и профилактики этого заболевания [1]. Главной целью медико-социальных программ при СД является поддержание гликемии на уровне здоровых лиц на протяжении максимально длительного времени. Достижение целевых показателей по гликемии позволяет предотвратить повышение уровня гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}), артериальную гипертензию и гиперхолестеринемию, минимизировать вероятность возникновения осложнений и максимально улучшить качество жизни пациентов. В течение 10-летнего наблюдения было установлено, что у больных СД I типа поддержание

нормогликемии профилактирует ретинопатию и нейропатию в 76 и 60% случаев соответственно, а также приводит к исчезновению микроальбуминурии у 39% больных [2].

Инсулинотерапия является главным методом лечения СД I типа, а также одним из важнейших средств терапии СД II типа [3, 4]. Максимальная эффективность инсулинотерапии в идеале достигается введением препаратов инсулина, приводящим к достижению физиологического соотношения уровней гликемии и инсулинемии [5]. В реальной практике это оставалось недостижимой задачей. Кроме того, ранее применяемое введение инсулинов животного происхождения в ряде случаев приводило к образованию антител к инсулину с последующим снижением переносимости и чувствительности к препарату.

Благодаря возможностям генной инженерии в 80-е гг. начато промышленное производство инсулинов, которые по структуре и биологическим свойствам полностью идентичны панкреатическому инсулину человека. В 2004 г. был получен первый высококачественный инсулин с полным циклом производства на территории РФ – Ринсулин® Р. В 2009 г. три европейские лаборатории (Proteome Factory AG Berlin, Prolytic GmbH Frankfurt am Main, Labor L+S A) подтвердили соответствие выпускаемой субстанции инсулина качеству европейской фармакопеи.

В настоящее время линейка генно-инженерных инсулинов человека (ГИИЧ) компании «Герофарм» включает в себя 3 препарата: Ринсулин® Р, Ринсулин® НПХ и Ринсулин® микс 30/70, являющихся биосимилярами препаратов Хумулин®, Хумулин® НПХ и Хумулин® М3 соответственно. Препараты различаются по времени действия и профилю активности: короткого действия, средней продолжительности действия и двухфазный.

Препараты Ринсулин® Р и Ринсулин® НПХ зарегистрированы и разрешены к применению в Российской Федерации с 2004 г. Однако в связи с изменением нормативных требований [6–13] к программе разработки инсулинов человека для подтверждения биосимилярности референтным препаратам в настоящее время проведены дополнительные клинические и неклинические исследования.

В программу клинических исследований ГИИЧ входят исследования фармакологии: фармакокинетика (ФК), фармакодинамика (ФД) и исследование клинической безопасности. Перед этапом клинических исследований ГИИЧ проходит доклиническое *in vivo* и *in vitro* изучение, а также сравнительное изучение физико-химических свойств биосимиляра с референтным препаратом. К проведению клинических исследований допускаются только те препараты, которые продемонстрировали свою идентичность на предыдущих этапах.

Для изучения фармакологических свойств инсулина в соответствии с настоящими рекомендациями [6, 12, 13] используется метод гиперинсулинемического эугликемического клэмп (ГЭК). ГЭК является «золотым стандартом» изучения фармакодинамических свойств антидиабетических препаратов [14–16] и играет центральную роль в программе клинических исследований биосимиляров инсулина. Сравнительное изучение свойств ФК и ФД с помощью ГЭК обладает высокой чувствительностью для выявления различий оригинального препарата и его биоаналога [6, 7]. При этом полученные данные о сравнительной фармакологии тестируемого препарата (ТП) и препарата сравнения (ПС) могут служить подтверждением их клинической сопоставимости, так как скорость инфузии глюкозы (СИГ) является принятым суррогатным маркером, который прямо измеряет эффект инсулина, заключающийся в утилизации экзогенно вводимой глюкозы [15]. Он соотносится с исходом у субъектов в такой степени, что подтверждение аналогичного влияния на ФД-маркер будет обеспечивать аналогичное влияние на клинический исход [6, 7, 12]. Таким образом, проводить отдельные исследования эффективности при изучении биопо-

добия 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, 7, 12, 13].

Цель исследования – оценка биосимилярности препаратов Ринсулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «Герофарм», Россия) и Хумулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) в условиях ГЭК на здоровых добровольцах.

Материал и методы. В качестве дизайна исследования было выбрано двойное слепое рандомизированное, перекрестное исследование сравнительной фармакокинетики ТП Ринсулин® НПХ (ООО «Герофарм», Россия) и ПС Хумулин® НПХ («Лилли Франс», Франция).

В соответствии с нормативными рекомендациями [6, 12] 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 «сахарный диабет» у ближайших родственников; уровень глюкозы в плазме натощак более 6,1 ммоль/л; уровень HbA_{1c} более 6%; пероральный глюкозотолерантный тест – уровень глюкозы в крови более или равно 7,8 ммоль/л (через 2 ч после нагрузки глюкозой).

Исследование было проведено на базе клинического центра ГАУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3». Для участия в исследовании были привлечены здоровые добровольцы из базы данных добровольцев исследовательского центра.

Длительность исследования для каждого добровольца не превысила 45 дней. Общая продолжительность исследования составила 3 мес (с 23.10.2017 по 01.02.2018).

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

Визит 1 – скрининг. На данном визите был собран медицинский анамнез, проведены стандартные клинический и биохимический анализы крови, анализ мочи, физикальный осмотр, оценка 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. Добровольцы, успешно прошедшие скрининг (сокращенный скрининг), допускались 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. Добровольцы накануне проведения ГЭК госпитализировались в клинический центр. По-

следний прием 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. 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 1 ч до инъекции исследуемого препарата такой доброволец подвергался процедуре ГЭК. Если уровень глюкозы в плазме 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 определенное время до инъекции в соответствии с предоставленными инструкциями. После этого ИП в инсулиновом шприце передавался заслепленной команде для осуществления инъекции. ИП вводили непосредственно перед ГЭК в дозе 0,4 МЕ/кг однократно подкожно в область подкожно-жировой клетчатки передней брюшной стенки живота.

После инъекции ИП проводили контроль уровня глюкозы в крови. Считалось, что начало действия ИП проявляется снижением уровня глюкозы в крови на величину более 5% от начальной 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 коррекция СИГ производили каждые 5 мин в течение первых 10 ч, с 10 до 12 ч – каждые 10 мин, с 12 до 24 ч (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.

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 ($AUC_{ins.0-12}$), макси-

мальная концентрация инсулина в крови за период наблюдения ($C_{ins.max}$).

Вторичными конечными точками в настоящем исследовании являлись фармакокинетические показатели ИП: 1) $AUC_{ins.0-2}$; 2) $AUC_{ins.0-6}$; 3) $AUC_{ins.0-24}$; 4) $AUC_{ins.0-8}$; 5) время достижения максимальной концентрации инсулина – t_{max} ; 6) период полувыведения инсулина – $t_{1/2}$, а также следующие фармакодинамические показатели: 7) суммарная площадь под кривой «СИГ – время» в интервале времени от 0 до 12 ч ($AUC_{GIR0-12}$); 8) до 24 ч – $AUC_{GIR0-24}$; 9) максимальная СИГ за период исследования – GIR_{max} ; 10) время достижения максимальной СИГ глюкозы – $tGIR_{max}$; 11) время между введением ИП и началом инфузии глюкозы – $tGIR_{lag}$.

Критериями оценки безопасности в настоящем исследовании являлись: 1) частота и тяжесть возникновения нежелательных явлений (НЯ); 2) отклонение от нормы жизненно важных показателей: артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений, температуры тела; 3) частота возникновения местных реакций в месте инъекции; 4) изменение уровня калия в крови; 5) отклонение от нормы лабораторных показателей и ЭКГ.

Анализ результатов проводили на данных, полученных непосредственно после введения ТП и ПС группы Ринсулин® НПХ и Хумулин® НПХ 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 ТП во время периода I, а во время периода II – ПС. Вторая группа наоборот – во время периода I получила ПС, а во время периода II – ТП. Очередность периодов была неизвестна для добровольца и исследователей.

Фармакокинетика. Для получения первичных данных по фармакокинетике 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: до точки 8 ч отбор осуществляли 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, 7, 12] анализ данных осуществляли в пределах дозирочного интервала, который для ИП составил 12 ч.

Для подтверждения угнетения выработки собственного инсулина осуществляли отбор образцов плазмы для определения концентрации С-пептида в точках отбора крови для определения концентрации инсулина. На этапе анализа эти данные также

использовали для коррекции фармакокинетических данных (вычитание уровня собственного инсулина для получения данных, касающихся только инсулина, введенного извне).

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

Фармакодинамика. Количественное определение уровня глюкозы в крови в период ГЭК проводили в образцах цельной венозной крови с помощью откалиброванных глюкометров StatStrip Glucose and β -Ketone Hospital Meter производства «Nova Biomedical», США [17, 18].

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 от 04.03.2016 № 159), а также независимым этическим комитетом при клиническом центре ГАУЗ Ярославской области «Клиническая больница № 3» (выписка протокола № 78 от 02.10.2017).

Принципы расчета размера выборки. Ввиду того, что первичной целью исследования являлось сравнение фармакокинетических свойств препаратов Ринсулин® НПХ и Хумулин® НПХ у здоровых добровольцев, для расчета размера выборки были использованы данные по среднему значению и стандартному отклонению первичных фармакокинетических показателей $AUC_{ins.0-T}$ и $C_{ins.max}$ [19]. Расчет размера выборки был выполнен для более варибельного 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.

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 (включенный в последовательность), период исследования и препарат как источники вариации. Полученную оценку остаточной вариации использовали при расчете 90% доверительных интервалов для отношения геометрических средних ФК параметров $C_{ins.max}$ и $AUC_{ins.0-12}$ ТП (Ринсулин® НПХ) к ПС (Хумулин® НПХ). Сопоставимость считалась доказанной, если 90%

доверительные интервалы находились в пределах 80–125% [7, 12].

Расчет доверительных интервалов для фармакодинамических параметров был нецелесообразен, так как, согласно литературным данным, коэффициент внутрииндивидуальной варибельности фармакодинамических показателей инсулина-изофана близок к 70% [20]. Таким образом, для доказательства аналогичности ФД-профилей потребовалась бы выборка не менее 175 человек. Набор такого количества здоровых добровольцев неэтичен, так как в соответствии с требованиями нормативных документов [6, 12, 13] сопоставление фармакодинамических профилей для инсулинов средней продолжительности 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 нежелательных явлений не проводился, так как в данном исследовании нежелательных явлений зафиксировано не было.

Результаты и их обсуждение. После прохождения скрининга в исследование было включено 52 здоровых добровольца, соответствующих критериям включения/невключения. Характеристика добровольцев представлена в табл. 1. Данные по 5 субъектам были исключены из анализа ФК и ФД в связи с выявленными отклонениями от протокола клинического исследования. Исключение указанных субъектов никак не повлияло на полученные результаты, так как из статистической обработки были удалены данные по обоим периодам клэмпа. Кроме того, анализируемая выборка по протоколу (47 добровольцев) составила не менее запланированной – 46 субъектов. В анализ безопасности были включены данные всех 52 участников.

Таблица 1

Демографическая и антропометрическая информация обо всех рандомизированных субъектах (среднее \pm стандартное отклонение, $n=52$)

Показатель	Значение
Возраст, лет	31,67 \pm 8,25
Масса тела, кг	81,33 \pm 12,63
Рост, см	182,04 \pm 8,61
ИМТ, кг/м ²	24,41 \pm 2,34

Были рассчитаны показатели, подтверждающие качество клэмп-исследования, основанные на результатах измерения уровня глюкозы в крови в течение клэмпа. Полученные результаты подтверждают удовлетворительное качество проведенных клэмпов:

- Значение коэффициента вариации (CV, %) составило в среднем (4,31 \pm 1,34)% в группе ТП Ринсулин® НПХ и (4,39 \pm 1,18)% в группе ПС Хумулин® НПХ.

- Среднее удержание глюкозы в течение клэмп-теста составило $(5,02 \pm 0,02)$ ммоль/л в группе ТП Ринсулин® НПХ и $(5,02 \pm 0,03)$ ммоль/л в группе ПС Хумулин® НПХ.

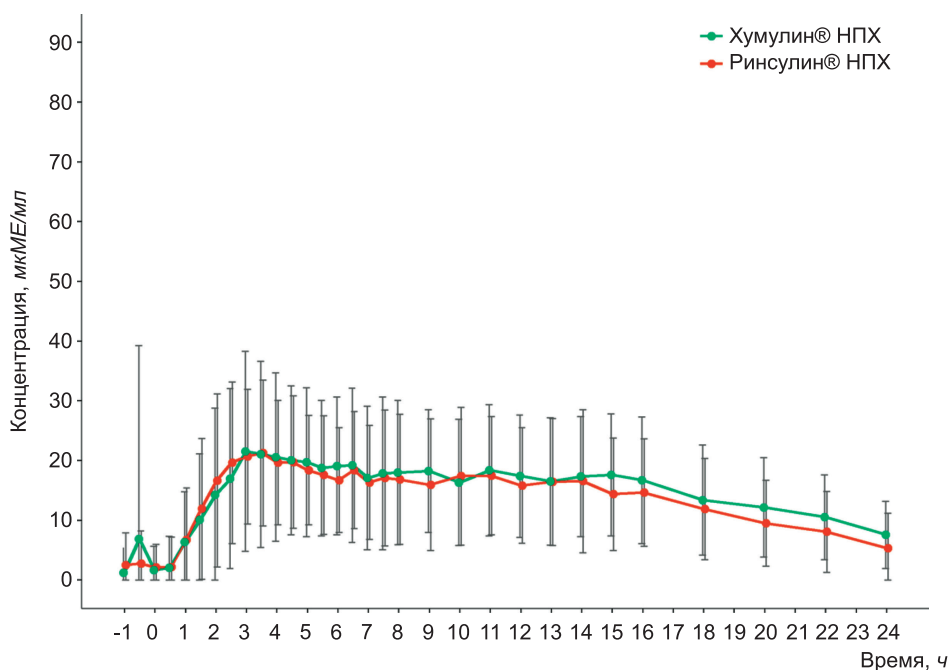
- Значение разницы от целевого уровня 5 ммоль/л в течение клэмп-теста составило $(0,17 \pm 0,06)$ ммоль/л в группе ТП Ринсулин® НПХ и $(0,17 \pm 0,06)$ ммоль/л в группе ПС Хумулин® НПХ.

- Значение разницы от допустимых границ 4,4–5,6 ммоль/л в течение клэмп-теста составило $(0,0002 \pm 0,0015)$ ммоль/л в группе ТП Ринсулин® НПХ и $(0,0004 \pm 0,0020)$ ммоль/л в группе ПС Хумулин® НПХ.

На рисунке и в табл. 2 представлены усредненные фармакокинетические кривые «концентрация–время» ТП и ПС в плазме крови добровольцев.

Отмечена сопоставимость основных фармакокинетических характеристик. Так, C_{max} составила $(44,67 \pm 15,09)$ и $(46,44 \pm 16,75)$ мкМЕ/мл, а AUC_{0-12} – $[(373,85 \pm 118,23)$ и $(376,77 \pm 124,88)$ мкМЕ/мл]×ч соответственно.

В табл. 3 представлены фармакодинамические параметры. Зафиксирована сопоставимость параметров действия ТП и ПС у добровольцев. Так, время между введением ИП и началом инфузии глюкозы ($tGIR_{lag}$) составило $(2,74 \pm 2,12)$ и $(2,30 \pm 1,83)$ 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 $(7,84 \pm 3,37)$ и $(8,78 \pm 3,98)$ ч, GIR_{max} –



Усредненные фармакокинетические профили концентрации инсулина в плазме крови участников после подкожного введения ТП и ПС ($n=47$, скорректированные на эндогенный уровень значения)

Таблица 2

Фармакокинетические параметры исследуемых препаратов, результаты оценки эквивалентности

Показатель	Кол-во чел., n	Ринсулин® НПХ (ТП) ^а	Кол-во чел., n	Хумулин® НПХ (ПС) ^а	Отношение ТП/ПС [90% ДИ] ^б
$C_{ins,max}$, мкМЕ/мл	47	$44,67 \pm 15,09$	47	$46,44 \pm 16,75$	0,97 [85,02; 111,29]
$AUC_{ins,0-12}$ (мкМЕ/мл)×ч	47	$373,85 \pm 118,23$	47	$376,77 \pm 124,88$	1,02 [88,10; 118,66]
$AUC_{ins,0-2}$ (мкМЕ/мл)×ч	47	$45,24 \pm 18,82$	47	$41,66 \pm 16,74$	
$AUC_{ins,0-6}$ (мкМЕ/мл)×ч	47	$183,61 \pm 60,57$	47	$179,93 \pm 64,99$	
$AUC_{ins,0-24}$ (мкМЕ/мл)×ч	47	$664,25 \pm 217,35$	47	$691,15 \pm 201,64$	
AUC_{0-8} (мкМЕ/мл)×ч	46	$1250,46 \pm 902,83$	47	$1165,21 \pm 494,65$	
t_{max} , ч	47	$7,03 \pm 4,96$	47	$8,02 \pm 5,20$	
$t_{1/2}$, ч	46	$17,96 \pm 22,52$	47	$15,08 \pm 13,01$	

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

(4,65±3,27) и (4,88±3,53) мг/кг/мин соответственно для ТП и ПС. Площади под кривыми AUC_{GIR0-12} составили (25,21±20,09) и (28,75±23,69) (мг/кг)×60 соответственно. Эти данные в совокупности с характеристиками индивидуальных кривых «СИГ–время» свидетельствуют о сопоставимости ФД-эффектов ИП.

Таблица 3

Фармакодинамические параметры исследуемых препаратов

Показатель	Кол-во чел., n	Ринсулин® НПХ (ТП) ^а	Кол-во чел., n	Хумулин® НПХ (ПС) ^а
GIR _{max} [*] , мг/кг/мин	47	4,65±3,27	47	4,88±3,53
AUC _{GIR0-12} (мг/кг)×60	47	25,21±20,09	47	28,75±23,69
AUC _{GIR0-24} (мг/кг) 60	47	43,27±29,79	47	49,82±33,24
tGIR _{max} [*] , ч	47	7,84±3,37	47	8,78±3,98
tGIR _{lag} [*] , ч	47	2,74±2,12	47	2,30±1,83

Примечание: а – результаты представлены в виде среднего ± стандартное отклонение.

Нежелательных явлений (включая серьезные), случаев смерти или других значимых нежелательных явлений в ходе исследования зарегистрировано не было. Ни один из испытуемых не прекратил участие в исследовании по причине развития нежелательного явления.

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

В соответствии с регуляторными требованиями [6, 7, 12, 13] статистическая оценка эквивалентности ИП была проведена на основании укладывания 90% доверительного интервала отношения первичных фармакокинетических конечных точек ТП к ПС в заранее определенные границы эквивалентности. Границами эквивалентности служили рекомендованные европейские и отечественные требования 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 (85,02–111,29)%, а AUC_{ins,0-12} – (88,10–118,66)%. Это подтверждает высокое подобие ТП Ринсулин® НПХ оригинальному препарату.

При выполнении дисперсионного анализа скорректированного фармакокинетического параметра AUC_{ins,0-12} (логарифмически преобразованные данные) было установлено, что значимый вклад в наблюдаемую вариабельность данных внесли факторы «последовательность» (p-value = 0,01425) и «субъект» (p-value < 0,00001), вклад остальных факторов был статистически незначимым (p-value = 0,88048 и p-value = 0,80601 для факторов «период» и «препарат» соответственно). При этом было получе-

но значение остаточной вариации, равное 0,18471, которое в дальнейшем было использовано при расчете доверительных интервалов для отношения средних значений рассматриваемого параметра.

При выполнении дисперсионного анализа скорректированного фармакокинетического параметра C_{ins,max} (логарифмически преобразованные данные) было установлено, что значимый вклад в наблюдаемую вариабельность данных внес фактор «субъект» (p-value = 0,00021), вклад остальных факторов является статистически незначимым (p-value = 0,97040, p-value = 0,11022 и p-value = 0,73235 для факторов «период», «последовательность» и «препарат» соответственно). При этом было получено значение остаточной вариации, равное 0,15096, которое в дальнейшем было использовано при расчете доверительных интервалов для отношения средних значений рассматриваемого параметра.

Для логарифмически преобразованных показателей AUC_{ins,0-12} и C_{ins,max} оказался значимым фактор «субъект», а для AUC_{ins,0-12} – «последовательность». Считается, что при относительно коротком промежутке между введениями препаратов и при адекватном периоде «отмывки» (значительно превышает период полувыведения препарата, который для человеческого инсулина-изофана составляет несколько часов, а продолжительность действия не более 24 ч) выявляемый статистически значимый фактор «последовательность» является, скорее всего, как и фактор «субъект», частью межличностной 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 биосимильности препаратов.

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

Качество проведенного клэмп-исследования, определенного по степени подавления секреции собственного инсулина и уровню удержания нормогликемии в течение клэмп-исследования, было удовлетворительным и сопоставимым между группами.

Ограничения исследования. Поскольку основной задачей данного исследования являлось изучение первичных ФК-параметров сравниваемых инсулиновых препаратов с целью доказательства их сопоставимости, для чистоты эксперимента и получения наиболее достоверных данных выбрана популяция здоровых добровольцев мужского пола в возрасте от 18 до 50 лет включительно. При использовании популяции здоровых волонтеров было минимизировано влияние факторов сопутствующих заболеваний на показатели концентрации инсулина и глюкозы в плазме крови. У женщин детородного возраста цикличность гормонального статуса могла повлиять на чувствительность к инсулину на разных этапах исследования. Поэтому для исключения влияния фактора цикличности менструального периода на инсулиновую чувствительность женщины не были

включены в исследование. Тем не менее полученные данные на однородной выборке без сопутствующих факторов искажения можно экстраполировать на всю популяцию пациентов с сахарным диабетом.

Выводы. На основании проведенного двойного-го слепого рандомизированного, сравнительного, перекрестного исследования фармакокинетики препаратов Ринсулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «Герофарм», Россия) и Хумулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) с использованием метода гиперинсулинемического эугликемического клэмп на здоровых добровольцах ТП Ринсулин® НПХ и ПС Хумулин® НПХ являются эквивалентными. Сопоставимость также подтверждена на основе полученных данных ФД.

Сходность фармакологических (ФК/ФД) характеристик данных типов инсулинов в совокупности с полученными данными физико-химических и функциональных свойств позволяет экстраполировать эффективность референтного препарата Хумулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл («Лилли Франс», Франция) на тестируемый препарат Ринсулин® НПХ, суспензия для подкожного введения, 100 МЕ/мл (ООО «Герофарм», Россия) без проведения полномасштабных клинических исследований сравнительной эффективности. Тем не менее следующим этапом изучения биосимильности препаратов инсулина было исследование не худшей иммуногенности препарата Ринсулин® НПХ по сравнению с препаратом Хумулин® НПХ.

Степень прозрачности. Исследование спонсировала ГК «Герофарм». Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции, дизайна исследования и в написании рукописи. Носков С.М., Нагибин Р.М. и Луцкова Л.Н. являются представителями клинического центра, проводившего описываемое клиническое исследование при финансовой поддержке ГК «Герофарм». Драй Р.В., Макаренко И.Е. и Авдеева О.И. являются сотрудниками ГК «Герофарм». Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

ЛИТЕРАТУРА

- Сахарный диабет II типа. От теории к практике / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М.: МИА (Медицинское информационное агентство), 2016. – 576 с.
- King, P. The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes / P. King, I. Peacock, R. Donnelly // British journal of clinical pharmacology. – 1999. – Vol. 48 (5). – P.643–648.
- Калинникова, А.А. Сахароснижающий эффект инсулинов Ринсулин Р и НПХ в сравнении с инсулином Актарпид и Протафан при однократном подкожном введении: результаты одинарного слепого активно контролируемого клинического исследования / А.А. Калинникова, Л.Г. Стронгин // Медицинский альманах. – 2011. – № 5 (18). – С.172–174.
- Аметов, А.С. Терапевтические задачи и возможности их реализации при сахарном диабете типа 2 / А.С. Аметов // Cons. Medicum. – 2003. – № 9. – С.484–486.
- Авакова, К.А. Оптимизация методов современной инсулинотерапии при лечении сахарного диабета 1-го типа: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.03 / Авакова Карина Альбертовна. – М., 2009. – 125 с.
- Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2015. – 12 p. – URL: <https://www.ema.europa.eu/en/non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-recombinant-human>
- Guideline on similar biological medicinal products / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2015. – 7 p. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf
- Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2007. – 11 p. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-pharmacokinetics-therapeutic-proteins_en.pdf
- Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2005. – 10 p. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-clinical-investigation-pharmacokinetics-therapeutic-proteins_en.pdf
- Guideline on the investigation of bioequivalence / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2010. – 27 p. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf
- Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins / Committee for Medicinal products for Human Use. – European Medicines Agency, 2015. – 23 p. – URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins-revision-1_en.pdf
- Решение от 03.11.2016 № 89 «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».
- Разработка биоаналогичных (биоподобных) лекарственных препаратов, содержащих в качестве фармацевтической субстанции генно-инженерный инсулин человека или аналоги инсулина человека: руководство по экспертизе лекарственных средств. / А.Н. Миронов, В.А. Меркулов [и др.]. – М.: Полиграф-плюс, 2014. – Т. IV – 172 с.
- Heinemann, L. Measurement of insulin absorption and insulin action / L. Heinemann, J.H. Anderson Jr. // Diabetes Technol. Ther. – 2004. – Vol. 6 (5). – P.698–718.
- Euglycaemic glucose clamp: what it can and cannot do, and how to do it / T. Heise, E. Zijlstra, L. Nosek [et al.] // Diabetes, Obesity and Metabolism. – 2016. – Vol. 18 (10). – P.962–972.
- Hompesch, M. An Analysis of How to Measure Glucose during Glucose Clamps: Are Glucose Meters Ready for Research? / M. Hompesch, K. Klaus Rave // J. Diabetes Sci. Technol. – 2008. – Vol. 2. – P.896–898.
- Accuracy and reliability of the Nova StatStrip® glucose meter for real-time blood glucose determinations during glucose clamp studies / A. Rabiee, J.T. Magruder [et al.] // Journal of diabetes science and technology. – 2010. – Vol. 4 (5). – P.1195–1201.

18. The StatStrip glucose monitor is suitable for use during hyperinsulinemic euglycemic clamps in a pediatric population / K.A. Lindquist, K. Chow, A. West [et al.] // *Diabetes technology & therapeutics*. – 2014. – Vol. 16 (5). – P.298–302.
19. Новиков, В.С. Отчет о клинических исследованиях новых лекарственных форм инсулина (инсулин Ч_{био} Р, инсулин Ч_{био} НПХ), полученных на основе генно-инженерного инсулина человека, производства РАО «Биопрепарат» / В.С. Новиков. – СПб., 2000.
20. Heise, T. Lower within-subject variability of insulin detemir in comparison to NPH insulin and insulin glargine in people with type 1 diabetes / T. Heise [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53 (6). – P.1614–1620.
10. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on the investigation of bioequivalence. European Medicines Agency. 2010; 27 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-investigation-bioequivalence-rev1_en.pdf
11. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on Immunogenicity Assessment of Biotechnology-derived Therapeutic Proteins. European Medicines Agency. 2015; 23 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-immunogenicity-assessment-biotechnology-derived-therapeutic-proteins-revision-1_en.pdf
12. Reshenie № 89 ot 3 noyabrya 2016 goda «Ob utverzhdenii pravil provedeniya issledovaniy biologicheskikh lekarstvennykh sredstv Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza», glava 15.7 «Doklinicheskaya i klinicheskaya razrabotka bioanalogichnykh (biopodobnykh) lekarstvennykh preparatov, soderzhashchih rekombinantnyj insulin i analogi insulina» [Decision No. 89 of November 3, 2016 «On Approval of the Rules for Conducting Studies of Biological Medicines of the Eurasian Economic Union», chapter 15.7» Preclinical and clinical development of bioanalogical (bio-like) drugs containing recombinant insulin and insulin analogues «]. 2016.

REFERENCES

1. Dedov II, Shestakova MV. Saharnyj diabet 2 tipa: ot teorii k praktike [Type 2 diabetes: from theory to practice]. Moskva: MIA (Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo) [Moscow: MIA (Medical Information Agency)]. 2016; 576 p.
2. 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.
3. Kalinnikova AA, Strongin LG. Saharosnizhayushchij effekt insulinov Rinsulin R i NPH v sravnenii s insulinom Aktarpid i Protafan pri odnokratnom podkozhnom vvedenii: rezul'taty odinarnogo slepogo aktivno kontroliruемого klinicheskogo issledovaniya [Sugar-lowering effect of insulin Rinsulin R and NPH in comparison with insulin Aktarpid and Protafan with a single subcutaneous injection: the results of a single-blind, actively controlled clinical study]. *Medicinskij Al'manah* [Medical Almanac]. 2011; 5 (18): 172-174.
4. Ametov AS. Terapevticheskie zadachi i vozmozhnosti ih realizacii pri saharom diabete tipa 2 [Therapeutic tasks and the possibilities of their implementation in type 2 diabetes mellitus]. *Cons Medicum*. 2003; 9: 484-486.
5. Avakova KA. Optimizatsiya metodov sovremennoy insulinoterapii pri lechenii sakharnogo diabeta 1-go tipa [Optimization of modern insulin therapy methods in the treatment of type 1 diabetes mellitus]. Moskva: Rossiyskaya meditsinskaya akademiya posle diplomnogo obrazovaniya [Moscow: Russian Medical Academy of Postgraduate Education]. 2009; 125 p.
6. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on non-clinical and clinical development of similar biological medicinal products containing recombinant human insulin and insulin analogues. European Medicines Agency. 2015; 12 p. <https://www.ema.europa.eu/en/non-clinical-clinical-development-similar-biological-medicinal-products-containing-recombinant-human>
7. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on similar biological medicinal products. European Medicines Agency. 2015; 7 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-similar-biological-medicinal-products-rev1_en.pdf
8. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. European Medicines Agency. 2007; 11 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-pharmacokinetics-therapeutic-proteins_en.pdf
9. Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. European Medicines Agency. 2005; 10 p. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/draft-guideline-clinical-investigation-pharmacokinetics-therapeutic-proteins_en.pdf
13. Mironov AN, Merkulov VA, et al. Razrabotka bioanalogichnykh (biopodobnykh) lekarstvennykh preparatov, soderzhashchih v kachestve farmacevticheskoy substancii genno-inzhenernyj insulin cheloveka ili analogi insulina cheloveka; Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv; Tom IV. [Development of bio-analogous (bio-like) medicinal preparations containing as a pharmaceutical subparty the genetically engineered insulin of human or human insulin; Guidance on the examination of medicinal products; Volume IV]. Moskva: Poligraf-plyus [Moscow: Polygraph-plus]. 2014; 172 p.
14. Heinemann L, Anderson JH. Jr. Measurement of insulin absorption and insulin action. *Diabetes Technol Ther*. 2004; 6 (5): 698-718. doi: 10.1089/dia.2004.6.698.
15. Heise T, Zijlstra E, Nosek L, Heckermann S, Plum-Mörschel L, Forst T. Euglycaemic glucose clamp: what it can and cannot do, and how to do it. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2016; 18 (10): 962–972. doi: 10.1111/dom.12703.
16. Hompesch M, Klaus Rave K. An Analysis of How to Measure Glucose during Glucose Clamps: Are Glucose Meters Ready for Research? *J Diabetes Sci Technol*. 2008; 2: 896–898. doi: 10.1177/193229680800200522.
17. Rabiee A, Magruder JT, et al. Accuracy and reliability of the Nova StatStrip® glucose meter for real-time blood glucose determinations during glucose clamp studies. *Journal of diabetes science and technology*, 2010; 4 (5): 1195-1201. doi: 10.1177/193229681000400519.
18. 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. doi: 10.1089/dia.2013.0288.
19. Novikov VS. Otchet o klinicheskikh issledovaniyah novykh lekarstvennykh form insulina (Insulin Chbio R, Insulin Chbio NPH), poluchennykh na osnove genno-inzhenernogo insulina cheloveka, proizvodstva RAO «BIOPREPARAT» [A report on clinical trials of new dosage forms of insulin (Insulin Chbio R, Insulin Chbio NPH), obtained on the basis of human genetically engineered insulin, produced by RAO BIOPREPARAT]. Sankt-Peterburg [St Petersburg]. 2000.
20. Heise T, et al. Lower within-subject variability of insulin detemir in comparison to NPH insulin and insulin glargine in people with type 1 diabetes. *Diabetes*. 2004; 53 (6): 1614-1620.