

Lavoro originale

Studio multicentrico in aperto con analogo insulinico mix-50 NPL in diabetici tipo 2 scompensati

S. Gentile¹, M. Amodio², M. Agrusta³, P. Calatola², E. Del Vecchio², P. Memoli², E. Bellinfante⁴, G. Catapano⁴, P. Castagnola⁴, G. Corigliano⁴, A. Di Matteo⁴, A. Foglia⁴, G. Guarino¹, L. Lo Conte⁴, L. Lucibelli⁵, C. Martino⁶, M. Colacurcio⁷, D. Pascucci⁸, A. Perrelli⁴, C. Scurini⁴, G. Sodo⁹, S. Turco⁴

¹Dipartimento di Internistica Clinica e Sperimentale, Seconda Università di Napoli; ²UO di Diabetologia di Salerno; ³UO di Endocrinologia e Diabetologia, Cava dè Tirreni (SA); ⁴UO di Diabetologia di Napoli; ⁵UO di Diabetologia di Torre Annunziata; ⁶UO di Diabetologia di Castellammare di Stabia; ⁷UO di Diabetologia di Avellino; ⁸UO di Diabetologia di Benevento; ⁹UO di Diabetologia di Caserta

Corrispondenza: prof. Sandro Gentile, Cattedra di Medicina Interna, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Seconda Università di Napoli, Secondo Policlinico, Edificio 3, via Pansini 5, 80131 Napoli e-mail: sandro.gentile@unina2.it

G It Diabetol Metab 2008;28:65-70

Pervenuto in Redazione il 27-12-2007

Accettato per la pubblicazione il 19-03-2008

Parole chiave: diabete mellito, mix-50, analoghi dell'insulina

Key words: diabetes mellitus, mix-50, insulin analogues

RIASSUNTO

Nel diabete tipo 2 (DM2), una scadente risposta a ipoglicemizzanti orali (OHA) al massimo dosaggio è indicazione al trattamento insulinico. Analoghi rapidi (AR) mimano in modo più fisiologico dell'insulina regolare (HI) la secrezione precoce dopo pasto (DP). Analogamente le miscele di AR con analogo lento NPL, nelle fasi più avanzate del DM2 potrebbero gestire in modo più fisiologico sia le carenze di secrezione insulinica del picco precoce, sia la secrezione interprandiale con un numero di somministrazioni limitate. Dati preliminari indicano che l'uso di miscela AR + analogo NPL, mix-50 (Humalog Mix-50®), tre volte al giorno (TID) consente di ottenere in DM2 un compenso glicemico significativamente migliore rispetto ad altri schemi terapeutici, senza alterare il profilo di sicurezza. Scopo della ricerca è di valutare in DM2 in cattivo controllo glicemico l'effetto di mix-50 TID sui seguenti endpoint: primario, numero di pazienti che raggiungono una glicemia DP ≤ 180 mg/dl (target ADA); secondari, 1) numero di soggetti che raggiungono glicemia DP ≤ 140 mg/dl (target IDF)¹; 2) HbA_{1c}; 3) frequenza di ipoglicemie (IPO); 4) escursione glicemica (EG); 5) numero di soggetti in cui viene ridotta la somministrazione di mix-50 da 3 a 2 volte/die (BID). Sono stati arruolati e trattati per 6 mesi 297 DM2 con HbA_{1c} $8,2 \pm 0,4\%$, 169 F e 128 M, età 64 ± 12 a, BMI 27 ± 2 kg/m², adusi a consumare regolarmente 3 pasti/die, provenienti da ogni tipo di trattamento; a) OHA al massimo dosaggio (37%); b) OHA + NPH, OHA + HI + NPH/premiscela NPH (= 25%); c) HI da sola o + NPH o premiscela con HI (38%). Mix-50 è stata titolata a partire da 0,25-0,30 UI/kg di peso corporeo, ripartito in 50% al pasto principale, 15-20% a colazione e il resto al terzo pasto, con aggiustamenti del 15-20%, ogni 7 giorni. L'autocontrollo è stato regolarmente eseguito per valutare EG e IPO. Rispetto ai valori basali, dopo 6 mesi di trattamento con mix-50 TID è stata ottenuta una riduzione significativa ($p < 0,01$) di HbA_{1c} ($8,2 \pm 0,4$ vs $7,0 \pm 0,3$), numero di soggetti colpiti da ipoglicemie (23 vs 10), glicemia media (246 ± 87 vs 122 ± 36 mg/dl), DS

glicemica/settimana (193 vs 96); il 99% dei soggetti ha raggiunto l'endpoint primario e l'89% i secondari, mentre 16/297 e 8/281 sono passati alla somministrazione di mix-50 da 3 a 2 volte/die. I risultati ottenuti indicano che in DM2 abituati a fare regolarmente 3 pasti/die il trattamento con premiscela analogo rapido + NPL TID al 50% offre un profilo di efficacia e sicurezza significativamente migliore rispetto tanto a OHA che a terapia combinata o con insuline umane.

SUMMARY

An open multicentre trial with insulin analogue mix-50 NPL in patients with poorly compensated type 2 diabetes. Insulin treatment is required in subjects with an unsatisfactory response to the maximal dosed of oral agents (OHA). Rapid insulin analogues (AR) mimics a more physiological response to the meal than regular insulin as well as premixed preparations of rapid insulin analogues with NPL insulin could handle both rapid after-meal insulin require and basal insulin with a reduced number of insulin injections. Aim of the study was to evaluate the effects of premixed analogue (AR + NPL) mix-50 TID in type 2 diabetic subjects with $HbA_{1c} > 7,5\%$. The primary endpoint was: n. of patients achieving after-meal glucose ≤ 180 mg/dl (target ADA); secondary endpoints: 1) n. of subjects achieving after-meal glucose ≤ 140 mg/dl (target IDF)¹; 2) level of HbA_{1c} ; 3) frequency of hypoglycaemic episodes; 4) excursion of serum glucose levels; 5) n. of subjects in whom is necessary reduce the number of insulin injections/day. For 6 months mix-50 was administered TID to 297 DM2 subjects, 169 M and 128 F, mean values (\pm SD) HbA_{1c} $8.2 \pm 0.4\%$, age 64 ± 12 y, BMI $27 \pm$ kg/m², eating regularly three meals/day, starting from different treatment regimens: a) OHA alone (47%); b) OHA + NPH insulin, OHA + human + NPH/premixed human insulin (25%); c) regular human insulin alone or in combination with NPH/premixed human insulin (25%). Mix-50 was tritiated starting from 0.25-0.30 UI/kg bw, 20% at the breakfast, 50% at the principal meal and 30% at the third meal, increasing 15-20% the total dose every week, if necessary. Self-monitoring blood glucose was regularly performed to evaluate hypoglycaemic episodes. After 6-month treatment a significant reduction ($p < 0.001$) was observed vs baseline for HbA_{1c} mean values (8.4 ± 0.4 vs 7.0 ± 0.3 , n. of patients who experienced hypoglycaemia (26 vs 10), fasting blood glucose (246 ± 87 vs 122 ± 36 mg/dl), standard deviation of blood glucose (193 vs 96). The principal endpoint was achieved in 99% and the secondary endpoint in 89% of patients, respectively. The reduction from 3 to 2/day mix-50 injections was required in 16/297 and 8/281 subjects, at the 12th and 24th week, respectively. The results clearly indicate that in DM2 poorly compensated, regularly assuming three meals/day, the administration of mix-50 TID significantly and safely improve the level of glycemic control vs OHA alone or in combination with different human/NPH insulin regimens.

Introduzione

L'emoglobina glicata HbA_{1c} rappresenta un indice di compenso metabolico nel diabetico² e, contemporaneamente, di rischio per complicanze micro- e macrovascolari³. Il valore di

HbA_{1c} è correlato ai valori plasmatici della glicemia tanto a digiuno che nel postprandium^{4,5}. Nella fase iniziale del diabete mellito tipo 2, il principale difetto beta-cellulare è rappresentato dall'inadeguata secrezione insulinica in risposta al pasto e ha come conseguenza l'iperglicemia postprandiale. Nelle fasi successive, si realizza anche una inadeguata secrezione insulinica interprandiale con la conseguenza di una mancata inibizione della produzione epatica di glucosio, a sua volta responsabile dell'elevazione dei valori glicemici al risveglio.

In genere, la durata di malattia superiore a 5-8 anni e la scadente risposta al trattamento con ipoglicemizzanti orali utilizzati al massimo dosaggio, pur in assenza di chetoacidosi, costituiscono le stigmate cliniche della fase avanzata di malattia e consigliano solitamente di utilizzare il trattamento insulinico^{6,7}.

L'uso di analoghi rapidi dell'insulina si è rivelato più vantaggioso dell'insulina regolare, in rapporto alla capacità di mimare in modo più fisiologico il profilo di secrezione insulinica precoce in risposta al pasto⁸. Per le caratteristiche farmacocinetiche e farmacodinamiche delle miscele di analogo rapido con analogo ritardato con NPL nella proporzione reciproca del 50% (mix-50), nelle fasi più avanzate del diabete tipo 2 è possibile prevedere che questi preparati possano soddisfare l'esigenza di gestire in modo più fisiologico sia le carenze di secrezione insulinica relative al picco precoce, sia la secrezione interprandiale⁸⁻¹⁰, con il vantaggio di limitare il numero di somministrazioni.

Dati del gruppo di Kazda¹¹ sembrano suggerire che la somministrazione di miscela mix-50 tre volte al giorno prima dei pasti consente di ottenere in diabetici tipo 2 un compenso glicemico significativamente migliore rispetto ad altri schemi terapeutici, senza alterare il profilo di sicurezza. Partendo da questi presupposti e in considerazione del fatto che vi è una correlazione significativa tra la qualità di vita percepita dal paziente e il tipo di trattamento e il numero di iniezioni di insulina praticate ogni giorno¹², fattore questo non irrilevante ai fini dell'aderenza al trattamento, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare efficacia e tollerabilità di uno schema di trattamento con tre somministrazioni giornaliere di analogo mix-50 (lispro + lispro-NPL, Humalog Mix-50) in diabetici tipo 2 in cattivo controllo metabolico e per cui era richiesto trattamento insulinico secondo le attuali linee guida¹³.

Materiale e metodi

Criteria di arruolamento

Sono stati arruolati soggetti ambulatoriali consecutivi affetti da DM2 da 8 ± 3 anni, con $HbA_{1c} \geq 7,5\%$, di età compresa tra 25 e 70 anni, adusi a consumare regolarmente 3 pasti/die, che hanno accettato di praticare 3 iniezioni di insulina/die, provenienti da ogni tipo di trattamento:

- ipoglicemizzanti orali (OHA) al massimo dosaggio da soli o in combinazione (110 casi: Gr-A);
- OHA + NPH, OHA + insulina umana regolare, HI + NPH/premiscele NPH (74 casi: Gr-B);

– HI da sola o + NPH o premiscele con HI (113 casi: Gr-C). Sono stati esclusi pazienti che presentavano le seguenti caratteristiche sia in fase di arruolamento sia nelle fasi successive dello studio: infarto miocardico acuto o ictus recenti (da meno di 6 mesi), intervento di by-pass o di angioplastica recenti (da meno di 6 mesi), scompenso cardiaco congestizio, *unawariness hypoglycemia*, gravidanza, gravi malattie epatiche, renali, ematologiche, neoplastiche, rifiuto di firmare o ritiro in corso dello studio del consenso informato.

Sono stati valutati i seguenti endpoint:

- primario: numero di pazienti che raggiungono una glicemia postprandiale (DP) \leq 180 mg/dl (target ADA 2005);
- secondari:
 - 1) numero di soggetti che raggiungono glicemia DP \leq 140 mg/dl (target IDF)¹;
 - 2) variazioni di HbA_{1c} (normalizzata a 6%) tra inizio e fine trattamento;
 - 3) frequenza di ipoglicemie (IPO);
 - 4) escursione glicemica (EG);
 - 5) numero di soggetti in cui viene ridotta la somministrazione di mix-50 da tre a due volte/die (BID).

Titolazione della mix-50

Mix-50 è stata titolata a partire da 0,25-0,30 UI/kg di peso corporeo ripartita in 50% al pasto principale, 15-20% a colazione e il resto al terzo pasto, con aggiustamenti del 15-20%, ogni 7 giorni nelle prime 4 settimane e, successivamente, ogni 15-30 giorni. L'autocontrollo è stato regolarmente eseguito per valutare EG e IPO. Per tutta la durata dello studio sono stati eseguiti 2 volte a settimana profili glicemici su sangue capillare su sette punti (prima e 2 ore dopo i tre pasti e 4 ore dopo cena).

Sono stati arruolati e trattati per 6 mesi 297 DM2 con HbA_{1c} $8,2 \pm 0,4\%$, 169 F e 128 M, età 64 ± 12 a, BMI 27 ± 2 kg/m², trattati con Gr-A 37%, Gr-B 25%, Gr-C 38%.

Per la partecipazione allo studio è stata richiesta dai singoli ricercatori autorizzazione al proprio Comitato Etico.

Ciascuno sperimentatore ha arruolato in modo competitivo (tra i centri) e consecutivamente (in ciascun centro) i primi 50 pazienti che soddisfacevano i criteri di inclusione, anche in giorni di ambulatorio consecutivi, a partire dalla prima settimana da quando ha ricevuto il parere del proprio Comitato Etico. HbA_{1c} è stata dosata al tempo t_0 , t_{90} , t_{180} indicando i valori di riferimento e il metodo utilizzato. Nelle valutazioni statistiche sono stati normalizzati a 6 i valori derivati da metodi differenti. Le ipoglicemie sintomatiche o asintomatiche (rilevate dai diari dell'autocontrollo) osservate in corso sono state confrontate con quelle registrate sul diario glicemico dei pazienti nei 3 mesi precedenti l'arruolamento. Il valore soglia per l'ipoglicemia è stato fissato a 55 mg/dl.

Metodi statistici

I risultati sono espressi come medie \pm DS. Il livello minimo di significatività statistica è stato fissato per $< 0,05$. Sono stati utilizzati i test t di Student per dati appaiati, χ^2 con correzio-

ne di Yates, U test di Mann-Whitney, quando appropriati. È stato utilizzato software SPSSplus (Norusis Inc. III, USA 2002).

Risultati

I parametri principali relativi alla casistica in studio sono presentati nella tabella 1. Dal suo esame si rileva che i soggetti candidati al trattamento con con mix-50 erano in fase di cattivo controllo metabolico; 12 casi erano in trattamento esclusivo con glibenclamide e metformina al massimo dosaggio; 98 assumevano OHA al massimo dosaggio + insulina NPH *bed-time* o insulina umana regolare a pranzo + NPH o premiscela di insulina umana + NPH a cena, conservando un ipoglicemizzante orale a colazione o a colazione + cena; 113 casi praticavano schemi variabili con insulina umana regolare + NPH o premiscela di insulina umana + NPH. Nella stessa tabella è evidente la progressiva, significativa riduzione dei valori glicemici a digiuno, postprandiali e della glicemia media. La variabilità glicemica è stata valutata in base alla deviazione standard della media, derivata comparando i diari glicemici nella settimana precedente l'arruolamento, nella dodicesima e nella ventiquattresima settimana.

Durante il periodo di trattamento i valori di BMI e circonferenza vita non sono variati in modo apprezzabile. Anche i valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica non hanno subito variazioni.

Nella tabella 2 vengono comparati i dati salienti relativi alla riduzione dei valori medi di HbA_{1c}, al numero veramente elevato di soggetti che hanno raggiunto l'endpoint primario (99%) e quelli secondari (89%), realizzando anche una riduzione significativa sia del numero di soggetti che hanno lamentato episodi ipoglicemici sia del numero di ipoglicemie per settimana osservate nei singoli soggetti. Tanto i valori della glicemia media quanto quelli della deviazione standard si sono ridotti in maniera significativa a fine studio. La riduzione dei valori glicemici osservata nel corso dello studio ha reso necessario diminuire il numero di somministrazioni di mix-50 da 3 a 2/die in un numero esiguo di soggetti.

Discussione

I risultati ottenuti indicano che in diabetici tipo 2 abituati a consumare regolarmente 3 pasti/die il trattamento insulinico con premiscela analogo rapido + NPL premiscelate in quote pari al 50%, somministrate tre volte al giorno offre un profilo di efficacia e sicurezza significativamente migliore rispetto tanto a OHA quanto a terapia combinata o con insuline umane. Questo risultato può essere agevolmente ottenuto tanto in pazienti che iniziano per la prima volta il trattamento insulinico quanto in pazienti precedentemente trattati con schemi a insulina umana o in trattamento misto con ipoglicemizzanti orali e insulina una o più volte al giorno.

È verosimile che la più stabile biodisponibilità e il più costante assorbimento degli analoghi in generale, rispetto ai prepa-

rati protaminati siano responsabili del miglioramento e dalla stabilizzazione dei livelli glicemici con valori medi ridotti rispetto al basale e con variabilità glicemica molto più contenuta.

A tal proposito vanno ricordate le conclusioni di diversi studi che dimostrano: a) l'efficacia degli analoghi rapidi rispetto all'insulina regolare nella correzione dell'iperglicemia post-prandiale¹⁴⁻¹⁹; b) la maggiore riproducibilità di effetto di analo-

Tabella 1 Caratteristiche dei soggetti trattati con mix-50 tre volte al giorno. I valori sono espressi in medie \pm DS. Dei 297 soggetti arruolati 16/297 casi hanno ridotto la somministrazione di mix-50 a 2 volte al giorno dalla 12^a settimana e altri 8/274 alla 24^a settimana. I valori di HbA_{1c} sono stati tutti normalizzati a 6.

	Basale	Trattamento mix-50	
		12 settimane	24 settimane
Casi n.	297	297	297
Sesso M/F	128/169	-	-
Età (anni)	64 \pm 12	-	-
BMI (kg/m ²)	27 \pm 2	27 \pm 2	27 \pm 2
Durata del diabete (anni)	10 \pm 5	-	-
Trattamento iniziale/n. casi	OHA n. 12	-	-
	OHA + NPH n. 98	-	-
	OHA + IR/NPH/Premix n. 74	-	-
	IR + NPH/Premix n. 113	-	-
		16/297 BID	8/274 BID
HbA _{1c} (%)	8,2 \pm 0,4	7,5 \pm 0,2	7,0 \pm 0,2
Glicemia a digiuno (mg/dl)	160 \pm 29	125 \pm 16	110 \pm 6
Glicemia 2 h dopo colazione	186 \pm 26	130 \pm 13	125 \pm 13
Glicemia 2 h dopo pranzo	185 \pm 46	144 \pm 15	138 \pm 15
Glicemia 2 h dopo cena	179 \pm 24	146 \pm 12	126 \pm 9
Glicemia media (mg/dl)	246 \pm 193	171 \pm 188	122 \pm 96
Ipoglicemia (n. di soggetti)	23	10	10
CV maschi (cm)	112 \pm 17	110 \pm 16	110 \pm 16
CV femmine (cm)	90 \pm 11	88 \pm 11	88 \pm 11
PA sistolica (mmHg)	130 \pm 7	128 \pm 5	125 \pm 6
PA diastolica (mmHg)	85 \pm 3	85 \pm 5	85 \pm 4

CV: circonferenza vita; BMI: indice di massa corporea; Premix: premiscela di insulina regolare + NPH; OHA: ipoglicemizanti orali; IR: insulina umana regolare.

Tabella 2 Sintesi dei risultati e significatività statistica rispetto ai valori basali.

	HbA _{1c} (%)	Endpoint 1 ^{ario} % casi	Endpoint 2 ^{ario} % casi	IPO n. casi	IPO n/sett.	Glicemia media	Deviazione standard	BID n. casi
Basale	8,2 \pm 0,4			23	4	246	193	
12 settimane	7,5 \pm 0,2	66*	53*	10*	2	171*	188	16
24 settimane	7,0 \pm 0,3*	99*	89*	10*	1*	122*	96*	8

*p < 0,001 vs basale.

IPO: ipoglicemie.

ghi lenti rispetto all'insulina NPH^{20,21}; c) la superiore efficacia e la maggiore sicurezza d'uso di premiscele contenenti analoghi rapidi e analoghi-NPL rispetto a premiscele di regolare + NPH o alla sola glargine²²⁻³¹. I risultati della nostra ricerca sono in accordo con i dati della letteratura sopra citata, che rappresenta la chiave interpretativa di risultati da noi ottenuti nei tre gruppi di trattamento della nostra serie.

Di particolare rilievo è il risultato che il trattamento TID con Humalog mix-50 sia stato in grado di ridurre sia il numero di soggetti che hanno avuto episodi ipoglicemici, sia la frequenza degli episodi nel singolo soggetto³²⁻³⁴. Anche il fatto che in alcuni casi sia stato necessario passare da tre a due somministrazioni giornaliere di mix-50, eliminando preferenzialmente quella del mattino, può dipendere dalla riduzione dell'effetto glucotossico in soggetti con verosimile secrezione insulinica endogena ancora non del tutto esaurita e peraltro adusi a consumare uno spuntino molto ridotto per prima colazione.

Lo schema proposto può pertanto essere utilizzato in soggetti che effettivamente consumino tre pasti al giorno, mentre non è indicato per soggetti che saltino uno dei tre pasti o che osservino intervalli troppo lunghi tra i pasti. La somministrazione di 3 iniezioni al giorno è preferita da molti pazienti che riescono così a evitare la somministrazione *bed-time*, non a tutti gradita. Lo schema proposto, se adeguatamente controllato, riesce a normalizzare i valori glicemici in fase sia interprandiale sia postprandiale, realizzando un'insulinizzazione ottimale costante nel tempo.

Conflitto di interessi

Nessuno.

Bibliografia

- European Diabetes Policy Group 1998, International Diabetes Federation, European Region. A desktop guide to type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1998;106:240-69.
- ADA. *Standard of medical care in diabetes*. *Diabetes Care* 2005;28(suppl 1).
- The DECODE Study Group. *Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and ADA diagnostic criteria*. *The Lancet* 1999;21:617-21.
- Avignon A, Radauceanu A, Monnier L. *Nonfasting plasma glucose in a better mark of diabetic control than fasting plasma glucose in type 2 diabetes*. *Diabetes Care* 1997;20:1822-6.
- Monnier L, Lapinski H, Colette C. *Contribution of fasting and postprandial plasma glucose increments to the overall diurnal hyperglycemia of type 2 diabetic patients*. *Diabetes Care* 2003;26:881-5.
- Abrahamson MJ. *Optimal glycemic control in type 2 diabetes mellitus*. *Arch Int Med* 2004;16:486-91.
- Rotella CM. *Il diabete mellito, criteri diagnostici e terapia: un aggiornamento*. In: *Collana Manuali di Diabetologia*. Firenze: SEE Editrice 1999, pp. 180-8.
- Roach P, Woodworth JR. *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin lispro mixtures*. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:1043-57.
- Heise T, Weyer C, Serwas A, Heinrichs S, Osinga J, Roach P et al. *Time-action profiles of novel premixed preparations of lispro and NPL insulin*. *Diabetes Care* 1998;21:800-3.
- De Filippis MR, Bakaysa DL, Bell MA, Heady MA, Li S, Pye S et al. *Preparation and characterization of a cocrystalline suspension of (Lys B28, Pro B29) human insulin analogue*. *J Pharm Sci* 1998;87:170-6.
- Kazda C, Hülstrunk H, Helsenberg K, Langer F, Forst T, Hanefeld M. *Prandial insulin substitution with insulin lispro or insulin lispro mid mixture vs basal therapy with insulin glargine: a randomized controlled trial in patients with type 2 diabetes beginning insulin therapy*. *J Diabetes Complications* 2006;20:145-52.
- Franciosi M, Pellegrini F, De Berardis G, Belfiglio M, Di Nardo B, Greenfield S et al. *Correlates of satisfaction for the relationship with their physician in type 2 diabetic patients*. *Diab Res Clin Pract* 2004;66:277-86.
- Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R et al. *Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement from American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes*. *Diabetologia* 2006;29:1963-72.
- Bretzel RG, Arnolds S, Medding J, Linn T. *A direct efficacy and safety comparison of insulin aspart, human soluble insulin, and human premix insulin (70/30) in patients with type 2 diabetes*. *Diabetes Care* 2004;27:1023-7.
- Hermansen K, Fontaine P, Kukulja KK, Peterkova V, Leth G, Gall MA. *Insulin analogues (insulin detemir and insulin aspart) versus traditional human insulins (NPH insulin and regular human insulin) in basal-bolus therapy for patients with type 1 diabetes*. *Diabetologia* 2004;47:622-9.
- Boehm BO, Home PD, Behrend C, Kamp NM, Lindholm A. *Premixed insulin aspart 30 vs premixed human insulin 30/70 twice daily: a randomized trial in type 1 and type 2 diabetic patients*. *Diabet Med* 2002;19:393-9. Erratum in: *Diabet Med* 2002;19:797.
- Raslová K, Bogoev M, Raz I, Leth G, Gall MA, Hâncu N. *Insulin detemir and insulin aspart: a promising basal-bolus regimen for type 2 diabetes*. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;66:193-201. Erratum in: *Diabetes Res Clin Pract* 2006;72:112.
- Rosenstock J, Rood J, Cobitz A, Biswas N, Chou H, Garber A. *Initial treatment with rosiglitazone/metformin fixed-dose combination therapy compared with monotherapy with either rosiglitazone or metformin in patients with uncontrolled type 2 diabetes*. *Diabetes Obes Metab* 2006;8:650-60.
- Gin H, Hanaire-Broutin H. *Reproducibility and variability in the action of injected insulin*. *Diabetes Metab* 2005;31:7-13.
- Kudva YC, Basu A, Jenkins GD, Pons GM, Quandt LL, Gebel JA et al. *Randomized controlled clinical trial of glargine versus ultralente insulin in the treatment of type 1 diabetes*. *Diabetes Care* 2005;28:10-4.
- Heise T, Nosek L, Rønn BB, Endahl L, Heinemann L, Kapitza C 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;53:1614-20.
- Schwartz S, Zagar AJ, Althouse SK, Pinaire JA, Holcombe JH. *A single-center, randomized, double-blind, three-way crossover study examining postchallenge glucose responses to human insulin 70/30 and insulin lispro fixed mixtures 75/25 and 50/50 in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Clin Ther* 2006;28:1649-57.

23. Roach P, Malone JK. *Comparison of insulin lispro mixture 25/75 with insulin glargine during a 24-h standardized test-meal period in patients with type 2 diabetes*. *Diabet Med* 2006; 23:743-9.
24. Jacober SJ, Scism-Bacon JL, Zagar AJ. *A comparison of intensive mixture therapy with basal insulin therapy in insulin-naïve patients with type 2 diabetes receiving oral antidiabetes agents*. *Diabetes Obes Metab* 2006;8:448-55.
25. Malone JK, Bai S, Campaigne BN, Reviriego J, Augendre-Ferrante B. *Twice-daily pre-mixed insulin rather than basal insulin therapy alone results in better overall glycaemic control in patients with type 2 diabetes*. *Diabet Med* 2005;22:374-81.
26. Roach P, Woodworth J, Gudat U, Cerimele B, Diebler F, Pein M et al. *A 75% insulin lispro/25% NPL mixture provides a longer duration of insulin activity compared with insulin lispro alone in patients with type 1 diabetes*. *Diabet Med* 2003;20:946-52.
27. Roach P, Bai S, Charbonnel B, Consoli A, Taboga C, Tiengo A et al; High Mix Study Group. *Effects of multiple daily injection therapy with Humalog mixtures versus separately injected insulin lispro and NPH insulin in adults with type 1 diabetes mellitus*. *Clin Ther* 2004;26:502-10.
28. Herz M. *Clinical update on Humalog Mix25 a novel pre-mixed formulation of insulin lispro and NPL*. *Int J Clin Pract Suppl* 1999;104:8-13
29. Herz M, Arora V, Sun B, Ferguson SC, Bolli GB, Frier BM. *Basal-bolus insulin therapy in type 1 diabetes: comparative study of pre-meal administration of a fixed mixture of insulin lispro (50%) and neutral protamine lispro (50%) with human soluble insulin*. *Diabet Med* 2002;19:917-23.
30. Roach P, Woodworth JR. *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin lispro mixtures*. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:1043-57.
31. Herz M, Profozic V, Arora V, Smircic-Duvnjak L, Kovacevic I, Boras J et al. *Effects of a fixed mixture of 25% insulin lispro and 75% NPL on plasma glucose during and after moderate physical exercise in patients with type 2 diabetes*. *Curr Med Res Opin* 2002; 18:188-93.
32. Raskin P, Allen E, Hollander P, Lewin A, Gabbay RA, Hu P et al. *Initiating insulin therapy in type 2 diabetes: a comparison of biphasic and basal insulin analogs*. *Diabetes Care* 2005; 28:260-5.
33. Malone JK, Kerr LF, Campaigne BN, Sachson RA, Holcombe JH; Lispro Mixture-Glargine Study Group. *Combined therapy with insulin lispro Mix 75/25 plus metformin or insulin glargine plus metformin: a 16-week, randomized, open-label, crossover study in patients with type 2 diabetes beginning insulin therapy*. *Clin Therap* 2004;26:2034-44.
34. Riddle MC, Rosenstock J, Gerich J. *Randomized addition of glargine or human NPH insulin to oral therapy of type 2 diabetic patients*. *Diabetes Care* 2003;26:3080-6.