

Inzulín – liek, ktorý dostal tri Nobelove ceny

Odborná redakcia DIA News

Zavedenie inzulínu do klinickej praxe znamenalo revolúciu v liečbe diabetu. Štúdium inzulínu tiež prispelo k lepšiemu pochopeniu štruktúry bielkovín, k interakciám na úrovni bielkovina – receptor. Podľa niektorých autorov by si preto inzulín zaslúžil titul “Bielkovina 20. storočia” (De Meyts, 2004).



Na objavení inzulínu a popísaní jeho účinkov sa podieľalo veľké množstvo postáv vedy, aj keď dnes sú už mnohí z nich zabudnutí. V literatúre preto môžeme nájsť rôzne mená pri tom istom objave. V predinzulínovej dobe predstavovalo hladovanie a obmedzenie príjmu energeticky bohatých potravín základnú metódou liečby diabetu. Všetkým diabetikom bolo odporúčané obmedziť príjem cukrov a škrobov v strave, obézni diabetici mali schudnúť. Uvedené opatrenia viedli k zlepšeniu glykémie a acidózy, ku zníženiu výskytu diabetickej kómy (Quianzon & Cheikh, 2012). Najznámejšia je starvačná diéta, ktorú navrhol americký lekár Frederick Madison Allen (1879 – 1964), založená na minimalizácii obsahu cukrov. Autor uvedenej diéty založil 26. apríla 1921 prvú kliniku na svete venovanú výlučne pacientom s diabetom *Physiatric Institute* v Morristowne, New Jersey, USA. Niektorí autori trpkos poznamenali, že rodičia detí s diabetom mali krutú voľbu medzi pomalšou smrťou dieťaťa na kachexiu alebo podstatne rýchlejšou smrťou na diabetickú ketoacidózu (De Meyts, 2004).

Jedným z míľnikov na ceste vedúcej k inzulínu boli objavy Josepha von Mehringa a Oskara Minkowského (Nemecko) v roku 1889. Zistili, že totálna pankreatektómia u psov vedie k diabetu a zároveň sa snažili liečiť ich extraktmi z pankreasov. Už v roku 1908 George Ludwig Zuelzer (Nemecko) dokázal pozitívny účinok podávania alkoholických extraktov z pankreasu diabetikom, avšak množstvo nežiaducich účinkov ukončilo tieto práce. Na začiatku 20. storočia mnohí vedci nezávisle od seba zistili význam Langerhansových ostrovčiek z hľadiska vzniku diabetu (Vecchio et al., 2018). V roku 1909 Jean de Meyer (Belgicko) použil prvýkrát pomenovanie inzulín pre neznámu látku produkovanú Langerhansovými

ostrovčekmi z latinského insula, čo znamená ostrov (Fralick & Zinman, 2021). O rok neskôr Sir Edward Albert Sharpey-Shafer (Veľká Británia) vyslovil hypotézu, že deficit jednej látky z pankreasu, ktorú nezávisle nazval insuline, vedie k vzniku diabetu (Polonsky, 2012).

Za objaviteľov inzulínu sa pokladajú Frederick Grant Banting a Charles Herbert Best, ktorí pracovali na letnom výskumnom projekte v laboratóriu Johna Jamesa Rickarda Macleoda v Toronte (Kanada). Projekt sa začal 17. mája 1921 a bol ukončený v septembri toho istého roku. Výsledky ukázali, že extrakt z pankreasu znižuje glykémiu, odstraňuje ketoacidózu a zastavuje metabolické účinky diabetu 1. typu. **Dňa 12. decembra 1921 oznámil Frederick G. Banting a Charles H. Best objav inzulínu odbornej spoločnosti American Society of Physiology.** Prvé preparáty inzulínu vyvolávali u psov rôzne nežiaduce reakcie a taktiež ich vplyv na glykozúriu bol veľmi variabilný (Vecchio et al., 2018). Koncom roka sa k skupine pripojil James Bertram Collip, ktorý v januári nasledujúceho roka pripravil inzulín vhodný na podanie ľuďom (Roth et al., 2012). Podobne ako pri iných objavoch sa dodnes vedie diskusia o tom, kto bol skutočne prvým objaviteľom. Vzhľadom na život ohrozujúce reakcie po aplikácii rôznych extraktov z pankreasu ani títo výskumníci nepokračovali v štúdiách na ľuďoch (Fralick & Zinman, 2021).

Prvým pacientom liečeným hovädzím inzulínom (skôr extraktom z pankreasu) bol 11. januára 1922 14-ročný Leonard Thompson. Výsledky nesplnili očakávania, podanie 2 x 7,5 ml extraktu nemalo vplyv na ketoacidózu, glykémia a glykozúria poklesli len mierne. Navyše v mieste vpichu došlo k abscesu. Išlo o preparát, ktorý nebol pripravený Jamesom B. Collipom. Dňa 23. januára 1922 došlo k zopakovaniu podania série inzulínových injekcií tentoraz už s pozitívnymi výsledkami. Normalizovala sa glykémia z 28,9 mmol/l na 6,7 mmol/l v dnešných jednotkách, glykozúria a ketonúria (Vecchio et al., 2018). Leonard Thompson žil ešte ďalších 13 rokov. Zomrel ako 26-ročný na pneumóniu. Keby nebolo inzulínu, pravdepodobne by zomrel vo veku 15 rokov (Fralick & Zinman, 2021). **Za svoje objavy v oblasti inzulínu dostal v roku 1923 Frederick G. Banting a John J. R. Macleod Nobelovu cenu za medicínu. Laureáti sa**

o cenu podelili s Jamesom B. Collipom a Charlesom H. Bestom. Na základe licencie od *Toronto Insulin Committee* sa rozbehla výroba inzulínu vo viacerých krajinách, v roku 1922 v USA, v roku 1923 v Dánsku, Nemecku, Rakúsku a v roku 1924 v Argentíne, Austrálii, Maďarsku (Vecchio et al., 2018). Liečba diabetu sa veľmi rýchlo rozširovala po svete. Jeden zo zakladateľov diabetológie Elliott Proctor Joslin (USA) spomínal, že za jeden rok liečil inzulínom až 127 pacientov (Roth et al., 2012).

Na začiatku sa používali inzulíny izolované z hovädzieho dobytku, ošípaných a oviec. Neskôr sa upustilo od ovčieho inzulínu a preferoval sa hlavne prasací inzulín (od humánneho inzulínu sa líši v jednej aminokyseline v B-reťazci) a hovädzí inzulín (od humánneho inzulínu sa líši v 3 aminokyselinách v B-reťazci) (Zaykov et al., 2016). V 20. rokoch sa inzulín aplikoval v 3 – 4 dávkach denne vzhľadom na jeho krátky účinok – okolo 6 hodín. Medzi podaniami inzulínu sa objavovala hyperglykémia a glykozúria. Vznikla potreba vytvoriť preparáty s dlhším účinkom. **Cieľom bolo v maximálnej možnej miere sa priblížiť k fyziologickým podmienkam pôsobenia inzulínu u zdravých jedincov.** Od polovice 30. rokov vidíme snahy pripraviť inzulíny s predĺženým účinkom. V roku 1936 pripravil Hans Christian Hagedorn (Dánsko) pridaním bázeickej bielkoviny protamínu inzulín s predĺženým účinkom. O tri roky neskôr David Aylmen Scott (Kanada) vytvoril komplex inzulín-protamín-zinok s účinkom do 48 hodín. Výsledkom týchto snáh bola v roku 1946 príprava izofánneho NPH (*Neutral Protamin Hagedorn*) inzulínu založeného na suspenzii kryštálov zložených z inzulínu, protamínu a zinku s trvaním účinku 16 – 24 hodín (Gualandi-Signorini & Giorgi, 2001). Inzulín našiel široké využitie v liečbe diabetu. Niektoré jeho nevýhody, napr. nutnosť pred aplikáciou ho dostatočne rozmiešať, profil s vrcholom účinku po samotnej aplikácii, ktorý môže viesť k hypoglykémii, hlavne ak sa aplikuje večer, obrátili pozornosť k vytvoreniu dlho účinkujúcich inzulínových analógov (Gradel et al., 2018). Možnosť miešať NPH inzulín s rýchlo účinkujúcim regular inzulínom viedla v 50. rokoch k vytvoreniu premixovaných inzulínov (Jacob et al., 2018).

Na začiatku 50. rokov Knud Hallas-Møller (Dánsko) pripravil na báze komplexu inzulín-zinok amorfné „lente“ inzulíny – semilente, lente a ultralente. Farmakokinetika týchto inzulínov je závislá od množstva zinku (Quianzon et al., 2012; Vecchi et al., 2018). Ich nevýhodou je značná intra- a interindividuálna variabilita (hlavne typ ultralente), preto boli postupne v klinickej praxi nahrádzané inými strednodobo a

dlhodobo účinkujúcimi inzulínmi. Treba však dodať, že v svojej dobe ich uvedenie predstavovalo veľký pokrok (Gualandi-Signorini & Giorgi, 2001; Owens et al., 2001).

Celosvetový nárast diabetu vyvolal potrebu zabezpečiť dostatočné množstvo inzulínu. Ako riešenie sa javila biotechnologická výroba s využitím techník rekombinantných molekúl DNA.

David Goeddel (USA) pripravil v roku 1978 prvého rekombinantného producenta humánneho inzulínu na báze baktérie *E. coli*. Výroba humánneho rekombinantného inzulínu je založená na využití baktérie *Escherichia coli* a kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. **Poznanie primárnej štruktúry inzulínu (Nobelova cena za chémiu, 1958, Frederick Sanger) a jeho terciárnej/kvartérnej štruktúry (Nobelova cena za chémiu, 1964, Dorothy Mary Crowfoot-Hodgkin) umožnili dizajnováť inzulínové analógy (Vecchio et al., 2018).** Inzulín sa u človeka vytvára v B-bunkách pankreasu zo 6 monomérov, ktoré vytvoria tri diméry a tie následne vytvoria hexamér stabilizovaný iónmi zinku. V krvnom obehu dôjde k vyplaveniu iónov zinku a hexamér sa rozpadne na monoméry inzulínu. Pri aplikácii exogénneho inzulínu môžu prechádzať cez kapilárnu stenu len monoméry inzulínu (pravdepodobne aj diméry). Sila vzájomných interakcií medzi molekulami inzulínu tvoriacimi hexamér v mieste aplikácie preto určuje nástup jeho biologického účinku. Čím sú tieto interakcie silnejšie, tým dlhšie trvá uvoľňovanie monomérov z hexaméru, čo má za následok dlhší nástup a trvanie účinku. Pri slabých vzájomných interakciách je uvoľnenie monomérov inzulínu rýchlejšie, a tým sa skracuje doba nástupu a trvanie účinku (Hirsch et al., 2020).

Postupne sa od polovice 90. rokov 20. storočia objavovali rýchlo účinkujúce inzulínové analógy – lispro, aspart a glulizín. Princíp rýchlejšieho účinku spočíva v zámene aminokyselín (Zaykov et al., 2016). Podľa odborníkov **rýchlo účinkujúce inzulínové analógy ponúkajú niekoľko výhod v porovnaní s humánnymi rýchlo účinkujúcimi inzulínmi (angl. *regular human insulin*) (Mathieu et al., 2017):**

1. rýchlejší nástup účinku – lepšie priblíženie sa k fyziologickému stavu,
2. lepšiu kontrolu postprandiálnej glykémie,
3. kratšie trvanie doby účinku,
4. nižšie riziko diurnálnej hypoglykémie,
5. nižšie riziko nočnej hypoglykémie,
6. nižšiu potrebu „dojedania sa“ (angl. *needs for snacks*),
7. väčšiu flexibilitu – možnosť aplikácie tesne pred jedlom, počas jedla alebo tesne po ňom (podľa typu analógu),
8. možnosť použitia v inzulínových pumpách.

Bazálne inzulínové analógy vstúpili do klinickej praxe začiatkom 21. storočia – glargín (U-100 a neskôr U-300), detemir

a degludek. Predĺženie účinku sa dosiahlo zámenou aminokyselín a chemickou modifikáciou inzulínovej molekuly alebo aj zmenou koncentrácie (Zaykov et al., 2016). **Bazálne inzulínové analógy predstavujú zásadný prínos v liečbe diabetu v porovnaní s „klasickými“ inzulínmi, čo sa prejavuje lepšou kontrolou glykémie a zvýšenou adherenciou pacientov k liečbe** (Mathieu et al., 2017):

1. dlhšie trvanie doby účinku (24 hod.) – možnosť aplikácie 1 x denne,
2. plochejší profil – nižšie riziko hypoglykémie, hlavne nočnej hypoglykémie,
3. nižšia interindividuálna a intraindividuálna variabilita – stabilnejší glykemický profil počas dňa a lepšia predikcia účinku,
4. nižšie riziko hypoglykémie všeobecne,
5. nižšie riziko nočnej hypoglykémie,
6. nižšia potreba neskorého večerného „dojedania sa“ (angl. *evening snacks*) – pozitívny účinok na hmotnosť,
7. väčšia flexibilita – vyššia adherencia pacientov k liečbe,
8. dostupnosť v koncentrovaných formách – zlepšenie adherencie k liečbe, dlhší účinok, vyššia flexibilita v dávkovaní, nižšie riziko hypoglykémie, hlavne nočnej.

Liečba diabetu predstavuje komplexný proces. Preto ani vývoj nových inzulínov neustáva. Cieľom je maximálne sa priblížiť k účinku inzulínu u zdravých jedincov. Môžeme očakávať príchod ultrarýchlych analógov založených na novom dizajne inzulínovej molekuly, analógov s veľmi dlhým účinkom, miniinzulínov a inzulínových mimetík, „smart“ inzulínov uvoľňujúcich sa z depotu len pri náraste koncentrácie glukózy v krvi a podobne (Zaykov et al., 2016). Budúcnosť prinesie ďalšie zásadné zmeny v liečbe diabetu.

Literatúra

1. De Meyts, P. (2004): *BioEssays*, 26, 1351–1362
2. Fralick, M., Zinman, B. (2021): *Diabetologia*, doi.org/10.1007/s00125-020-05371-6
3. Gradel, A.K.J. et al. (2018): *J. Diabet. Res.*, 2018, 1205121
4. Gualandi-Signorini, A.M., Giorgi, G. (2001): *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 5, 73-83
5. Hirsch, I.B. et al. (2020): *Endocrine Rev.*, 41, 733–755
6. Jacob, S. et al. (2018): *Ind. J. Pharmaceut. Educat. Res.*, 52, 550-557
7. Mathieu, C. et al. (2017): *Nature Rev. Endocrinol.*, 13, 385–399
8. Owens, D.R. et al. (2001): *Lancet*, 358, 739-746
9. Polonsky, K.S. (2012): *N. Engl. J. Med.*, 367, 1332-1340
10. Quianzon, C.C., Cheikh, I. J. (2012): *Commun. Hosp. Inter. Med. Persp.*, 2, 18701
11. Roth, J. et al. (2012): *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 28, 293–304
12. Vecchio, I. et al. (2018): *Front. Endocrinol.*, 9, 613
13. Zaykov, A.N. et al. (2016): *Nature Rev. Drug Discover.*, 15, 425-439