

Ανασκοπήσεις

Η φαρμακοκινητική της ινσουλίνης

Περίληψη

Φ. Χαρσούλης

Η θεραπεία υποκατάστασης με ινσουλίνη επιβάλλει όπως αξιολογηθούν πλήρως οι παράμετροι που καθορίζουν την απορρόφηση και τη μεταβολική κάθαρση της υποδορίως χορηγούμενης ινσουλίνης με σκοπό τη μίμηση των πολυπλόκων μηχανισμών που ελέγχουν την ενδογενή έκκριση. Κύριοι παράγοντες είναι η φυσική κατάσταση και η συγκέντρωση του σκευάσματος της ινσουλίνης, ο όγκος του ενιεμένου διαλύματος καθώς και η θερμοκρασία, η φυσική άσκηση του σκέλους, η μάλαξη και η προσθήκη ουσιών που προκαλούν αγγειοδιαστολή και μεταβάλλουν τον αριθμό των λειτουργούντων τριχοειδών. Η υποδόρια απορρόφηση, η μεταβολική κάθαρση και η δράση της διαλυτής ινσουλίνης είναι βραδείες και δεν καλύπτουν πλήρως τις ανάγκες της γευματικής υπεργλυκαιμίας. Απαιτείται ως εκ τούτου συγχρονισμός της γευματικής ινσουλιναιμίας και υπεργλυκαιμίας που επιτυγχάνεται με χορήγηση της ινσουλίνης 30-60 λεπτά προ του γεύματος σε σημεία ταχείας απορρόφησης π.χ. κοιλιά. Η χρήση των νεότερων αναλόγων ή μονομερών ινσουλινών θα καλύψει ακόμη καλύτερα αυτή την ανάγκη. Η ενδοφλέβια, ενδορινική, ενδοπεριτοναϊκή αλλά και ενδομυϊκή χορήγηση ινσουλίνης εξασφαλίζουν ταχύτερα φυσιολογικά επίπεδα στο πλάσμα αλλά δεν προσφέρονται για καθημερινή χρήση. Τα σκευάσματα ενδιάμεσης και μακράς δράσης διασπώνται βραδέως στο υποδόριο ιστό και τελικώς η ινσουλίνη απορροφάται ως ελεύθερη. Μετά την είσοδο στην κυκλοφορία η ελεύθερη ινσουλίνη ενδέχεται να δεσμευθεί από αντισώματα, κατανέμεται στους ιστούς όπου ασκεί τη δράση της και μεταβολίζεται κυρίως στο ήπαρ (60-80%) και στους νεφρούς (10-20%). Η ανεπάρκεια αυτών των οργάνων προκαλεί συσσώρευση της στο πλάσμα.

Η θεραπεία των διαβητικών ασθενών με ινσουλίνη είναι η πρώτη θεραπεία υποκαταστάσεως που χορηγήθηκε στην ιστορία της ιατρικής!. Παρά ταύτα όμως η θεραπεία αυτή εξακολουθεί να παρουσιάζει εγγενείς αδυναμίες, οι οποίες προς το παρόν, είναι ανυπέρβλητες.

Σε αντίθεση με τις άλλες θεραπείες υποκαταστάσεως που χρησιμοποιούνται στην ενδοκρινολογία, όπως της θυροξίνης στη θεραπεία του υποθυρεοειδισμού, της υδροκορτιζόνης στη νόσο του Addison και των ανδρογόνων και οιστρογόνων στη θεραπεία του υπογοναδισμού, η χορήγηση της ινσουλίνης δεν

Β' Προπαιδευτική
Παθολογική Κλινική,
Ιατρικό Τμήμα, ΑΠΘ,
Ιπποκράτειο Νοσοκομείο,
Θεσσαλονίκη

μπορεί να μιμηθεί την ενδογενή έκκριση, από την οποία παρουσιάζει ουσιαστικές διαφορές.

1. Η έκκριση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα των νησιδίων του παγκρέατος ελέγχεται ανά λεπτό από πολύπλοκους μηχανισμούς που εξασφαλίζουν ομοιοστασία, ενώ η ένεση ινσουλίνης χορηγείται προσχεδιασμένα πριν από τις προβλεπόμενες μεταβολικές ανάγκες του οργανισμού.

2. Η έκκριση της ινσουλίνης φυσιολογικά γίνεται στην πυλαία φλέβα, όπου επιτυγχάνονται πολύ υψηλές πυκνότητες. Αντίθετα η υποδόρια ένεση της ινσουλίνης γίνεται στους περιφερικούς ιστούς με αποτέλεσμα η συγκέντρωση της ινσουλίνης στην πυλαία σε σχέση προς την περιφέρεια να είναι χαμηλή.

3. Η έκκριση της ινσουλίνης είναι σφυγμική με περιόδους έκκρισης διάρκειας περίπου 4 λεπτών, ανά 12 λεπτά². Η φυσιολογική σημασία του φαινομένου δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως, αν και είναι γνωστό ότι ορισμένες μεταβολικές εξεργασίες του ηπατικού κυττάρου εξαρτώνται από τις σφυγμικές ώσεις της ινσουλίνης, όπως η δραστικότητα της εξοκινάσης και της γλυκοκινάσης, ενζύμων τα οποία ρυθμίζουν την αποθήκευση της γλυκόζης.

Είναι αυτονόητο ότι η εφάπαξ χορηγούμενη υποδόρια ή ενδοφλέβια ένεση ινσουλίνης δεν μπορεί να μιμηθεί την ενδογενή έκκριση. Στην πράξη καταβάλλεται προσπάθεια όπως η υποδόρια χορήγηση καλύψει τις αυξημένες ανάγκες της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας, ενώ θα διατηρεί σταθερά τα βασικά επίπεδα ινσουλίνης, στη μεταξύ των γευμάτων χρονικό περίοδο, αποφεύγοντας παράλληλα την υπογλυκαιμία. Προς επίτευξη των παραπάνω στόχων είναι επιτακτική η ανάγκη της κατανόησης των διαφόρων παραγόντων που επηρεάζουν την απορρόφηση της ινσουλίνης και τη διαθεσιμότητά της στα κύτταρα-στόχους.

Σχέση χημικής δομής και απορρόφησης ινσουλίνης

Το μόριο της ινσουλίνης είναι πολυπεπτίδιο, αποτελούμενο από 51 αμινοξέα, τα οποία συγκροτούν τις δύο αλυσίδες Α και Β. Η ακριβής σύνθεση του μορίου έγινε γνωστή το 1952 από τον Sander, που τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ. Το μόριο έχει τρισδιάστατη δομή, η οποία έχει καθορισθεί επακριβώς το 1969. Η χημική δομή της ινσουλίνης έχει ορισμένες συνέπειες για τη θεραπευτική χρήση της³. 1) Το πρωτεϊνικό της

μόριο πέπτει τελείως στο έντερο και ως εκ τούτου καθίσταται τελείως ανενεργός κατά τη χορήγησή της από το στόμα. 2) Το μοριακό της βάρος είναι 5082, και είναι αρκετά μεγάλο, ώστε να απορροφηθεί από το επιθήλιο του βλεννογόνου, π.χ. ρινός, εκτός αν η ανατομική συνέχεια του τελουταίου διακοπεί. 3) Το μέγεθος του μορίου, ακόμη και στη μονομερή του μορφή, καθιστά τη διάχυση του μέσω των πόρων των τριχοειδών, βραδεία και δυσχερή. 4) Σε υψηλές συγκεντρώσεις, όπως επιτυγχάνονται στον υποδόριο ιστό, μετά την ένεση, η ινσουλίνη σχηματίζει διμερή, με αποτέλεσμα την παραπέρα επιβράδυνση της απορρόφησης. 5) Σε ακόμη μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, όπως ευρίσκεται στα φιαλίδια των φαρμακευτικών σκευασμάτων, το μόριο σχηματίζει εξαμερή, τα οποία διασπώνται σε διμερή μετά την υποδόρια ένεση, καθώς διαχέονται βραδέως στον υποδόριο ιστό.

Υποδόρια χορήγηση

Μετά την εξωγενή χορήγηση η ινσουλίνη θα απορροφηθεί από τα τριχοειδή του υποδορίου ιστού, θα εισέλθει στην κυκλοφορία, και θα φθάσει στα κύτταρα-στόχους όπου θα ασκήσει τη δράση της, ενώ παράλληλα θα αποδομηθεί. Ως εκ τούτου πρέπει να διακρίνουμε δύο φάσεις, χρονικές τουλάχιστον, οι οποίες αλληλοκαλύπτονται. Τη φάση της απορρόφησης, από το σημείο της ένεσης, έως την είσοδό της στο αίμα και τη μεταβολική της κάθαρση κατά την κυκλοφορία της στο πλάσμα και τους περιφερικούς ιστούς-στόχους.

Η απορρόφηση της ινσουλίνης από το σημείο της ένεσης μπορεί να μελετηθεί στον άνθρωπο με τρεις τρόπους⁴. Η πρώτη μέθοδος συνίσταται στη χορήγηση ραδιοσημασμένης ινσουλίνης με ¹²⁵I, και μέτρηση της ραδιενεργείας στο σημείο της ένεσης με μετρητή γ-ακτινοβολίας. Το ποσόν της ραδιενεργείας που παραμένει στο σημείο της ένεσης ελαττώνεται με την πάροδο του χρόνου με γραμμικό τρόπο και δίνει το μέτρο του ρυθμού της απορρόφησης της ινσουλίνης. Η δεύτερη μέθοδος συνίσταται στη συνεχή μέτρηση της ελεύθερης ινσουλίνης στο πλάσμα μετά την παρεντερική χορήγησή της. Η συνεχής ελάττωση των συγκεντρώσεων στο πλάσμα δίνει το μέτρο της μεταβολικής κάθαρσης. Η τρίτη μέθοδος στηρίζεται στην υπογλυκαιμική επίδραση της παρεντερικώς χορηγούμενης ινσουλίνης, όπως προσδιορίζεται κατά την τεχνική του ευγλυκαιμι-

κού clamp. Μετά την ενδοφλέβια ένεση της ινσουλίνης χορηγείται γλυκόζη ενδοφλεβίως, ενώ προσδιορίζεται η γλυκόζη αίματος, συνεχώς, ώστε να παραμένει στα φυσιολογικά επίπεδα. Το ποσόν της χορηγούμενης γλυκόζης είναι ποσοτικό μέτρο της δράσης της ινσουλίνης⁵.

Η απορρόφηση της ινσουλίνης εξαρτάται κατά βάση από τη φυσική κατάσταση της ενιμεμένης ινσουλίνης, διότι μεταβολή της διαλυτότητας στο φυσιολογικό pH, μεταβάλλει το ρυθμό απορρόφησής της.

Η ινσουλίνη ως γνωστόν χρησιμοποιείται υπό δύο κυρίως μορφές, ως διάλυμα που απορροφάται ταχέως και χαρακτηρίζει τα σκευάσματα βραχείας δράσης και ως εναιώρημα διαλυτών σωματιδίων ινσουλίνης διαφόρου μεγέθους, που χαρακτηρίζει τα σκευάσματα ενδιάμεσης ή μακράς δράσης. Στη δεύτερη κατηγορία η ινσουλίνη είναι συνδεδεμένη είτε με τη βασική πρωτεΐνη σε ουδέτερο διάλυμα και δίνει την ισοφανική ινσουλίνη, είτε με τα ιόντα ψευδαργύρου, χωρίς πρωταμίνη και δίνει τις διάφορες μορφές ινσουλίνης Lente (Πίν. 1).

Απορρόφηση της διαλυτής μη τροποποιημένης ινσουλίνης. Η διαλυτή ινσουλίνη στα φιαλίδια του εμπορίου ευρίσκεται υπό την εξαμερή της μορφή, με μοριακό βάρος 35000 και με ακτίνα διάχυσης του μορίου της 2,3 nm⁶. Μετά την ένεση επέρχεται καταρχήν αραιώση η οποία εξαρτάται από τη διασπορά της ενεθείσης ποσότητας ινσουλίνης και διάσπαση σε διμερείς και μονομερείς μορφές. Το αποτέλεσμα είναι ότι η ινσουλίνη ευρίσκεται σε ποικίλη αναλογία μονομερών και διμερών μορφών στα διάφορα σημεία της μικρής δεξαμενής που δημιουργήθηκε στο σημείο της υποδόριας ένεσης. Η αναλογία αυτή μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου και τελικώς ολόκληρη η ποσότητα διαλύεται και διασπάται σε μονομερή μορφή, η μοριακή ακτίνα της

οποίας είναι περίπου 1,2 nm. Τελικώς, η ινσουλίνη θα διαχυθεί μέσω των πόρων των τριχοειδών, η διάμετρος των οποίων επιτρέπει τη διόδο μορίων με ακτίνα περίπου 1 nm, ενώ εμποδίζει πλήρως την απορρόφηση μορίων άνω των 4 nm. Επομένως ο κριτικός παράγων που καθορίζει το ρυθμό απορρόφησης της ινσουλίνης είναι οι πόροι των τριχοειδών και ο αριθμός των τριχοειδών δια των οποίων ρέει το αίμα. Η ροή του αίματος δεν φαίνεται να αποτελεί ουσιώδη παράγοντα, αλλά ούτε και η ροή της λέμφου, καθόσον η ινσουλίνη δεν απορροφάται από τα λεμφαγγεία⁷.

Μετά την απορρόφησης της στην κυκλοφορία η μεταβολική κάθαρση της ινσουλίνης είναι ταχύτερη σε σχέση με την απορρόφησης της και τελικώς ο παράγων που διαμορφώνει την έναρξη δράσης της, καθορίζεται κυρίως από το ρυθμό απορρόφησης στο σημείο της υποδόριας ένεσης⁸.

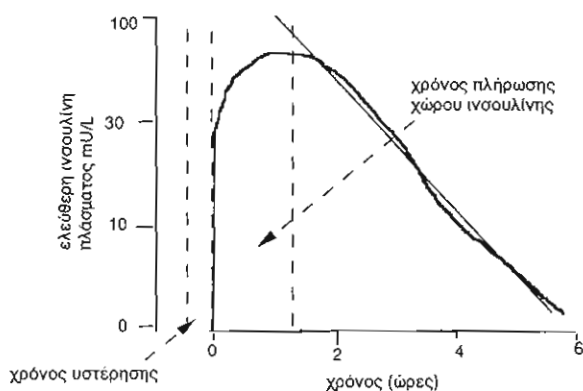
Χρονικά η απορρόφησης της ινσουλίνης μπορεί να διαιρεθεί σε δύο φάσεις. Η πρώτη φάση μετά την ένεση, είναι η περίοδος υστέρησης και αντιπροσωπεύει το χρόνο που απαιτείται ώσπου τα πρώτα μόρια να διαχυθούν μέσω των πόρων των τριχοειδών. Η πρώτη φάση διαρκεί περίπου 10 λεπτά. Η δεύτερη φάση συνίσταται σε αύξηση της συγκέντρωσης της ινσουλίνης στο πλάσμα και ο απαιτούμενος χρόνος κυμαίνεται περί τα 30 λεπτά ενώ μπορεί να παραταθεί έως 45-180 λεπτά. Κατά την περίοδο αυτή η ινσουλίνη του πλάσματος γεμίζει το χώρο κατανομής της. Οι τελικές αυξημένες συγκεντρώσεις στο πλάσμα καθυστερούν και σταθεροποιούνται μέχρις ότου απορροφηθεί ολόκληρη η υποδόρια ποσότητα. Μετά την άνοδο της στα υψηλότερα επίπεδα στο πλάσμα, η συγκέντρωση της ελαττώνεται εκθετικά, με ημιπερίοδο ζωής 60-120 λεπτά (Εικ. 1). Σημειώνεται ότι η χρονική περίοδος της ιστικής απορρόφησης της ινσουλίνης δεν πρέπει να συγχέεται με τη μεταβολική κάθαρση της κυκλοφορούσης ινσουλίνης³.

Οι φυσιολογικές επιδράσεις της ινσουλίνης δεν συμβαδίζουν με τις συγκεντρώσεις του πλάσματος, έτσι ώστε μετά μία ενδοφλέβια ένεση ινσουλίνης, η μέγιστη ελάττωση των επιπέδων γλυκόζης επέρχεται μετά από 30-40 λεπτά, αφού εντωμεταξύ οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης έχουν επιστρέψει στα φυσιολογικά όρια. Αυτό βέβαια οφείλεται στο ότι η ινσουλίνη δεν ασκεί τη δράση της στο πλάσμα, αλλά στα κύτταρα στόχους, που ευρίσκονται στο εξωαγγειακό χώρο.

Με βάση αυτά που αναπτύχθηκαν προκύπτει ότι η βραχείας δράσης ινσουλίνη παρουσιάζει

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ανθρωπίνων ινσουλινών

Τύπος	Επιβραδυντικό	Χρόνος δράσης (ώρες)		
		Έναρξη	Κορυφή	Διάρκεια
Διαλυτή	Ουδέν	0,25-1	1,5-4	5-9
NPH	Πρωταμίνη	0,5-2	3-6	8-14
Lente	Zn	1-2	3-8	7-14
Ultralente	Zn	2-3	4-8	8-14



Εικ. 1. Γραφική παράσταση της υποδόριας απορρόφησης διάλυτης ινσουλίνης, σε λογαριθμική κλίμακα. Υπάρχει μια βραχεία φάση υστέρησης περίπου 10 λεπτών, πριν η ινσουλίνη εμφανισθεί στο πλάσμα, που ακολουθείται από μία περίοδο ταχείας απορρόφησης, κατά την οποία η ινσουλίνη του πλάσματος γεμίζει το χώρο κατανομής της. Οι τελικές αυξημένες συγκεντρώσεις στο πλάσμα καθυστερούν και σταθεροποιούνται μέχρις ότου απορροφηθεί ολόκληρη η υποδόρια ποσότητα. Έκτοτε τα επίπεδα του πλάσματος ελαττώνονται εκθετικά (ευθεία γραμμή στη λογαριθμική κλίμακα) με ημιπερίοδο ζωής 60-120 λεπτών³.

σχετικώς βραδεία απορρόφηση από τους ιστούς και αύξηση των επιπέδων της στο αίμα, τα οποία επανέρχονται σχετικώς βραδέως στα προηγούμενα επίπεδα. Η απορρόφηση βεβαίως είναι ταχύτερη από τα σκευάσματα ενδιάμεσης και μακράς δράσης, δεν ανταποκρίνεται όμως ικανοποιητικά στις απαιτήσεις και προδιαγραφές ενός σκευάσματος βραχείας δράσης, όπως φαίνεται ότι θα επιτυγχάνεται από συνθετικά ανάλογα μονομερούς ινσουλίνης. Ένα τέτοιο ανάλογο που έχει χρησιμοποιηθεί απορροφάται 2-3 φορές ταχύτερα, χωρίς την αρχική καθυστέρηση που χαρακτηρίζει τα συμβατικά σκευάσματα βραχείας δράσης⁹.

Εκτός τούτου υπάρχει σημαντική διακύμανση στην υποδόρια απορρόφηση έτσι ώστε στον ίδιο ασθενή ο συντελεστής μεταβλητότητας της απορροφώμενης ποσότητας σε διαφορετικές ημέρες φθάνει έως 25% και μεταξύ ασθενών έως 50%.

Η απορρόφηση των συμπλόκων σκευασμάτων ινσουλίνης, ισοφανικής (NPH) και ψευδαργυρούχων, θα επιβραδυνθεί ακόμη περισσότερο, διότι το σύμπλεγμα θα πρέπει να διαλυθεί και να απελευθερωθεί η ελεύθερη ινσουλίνη, η οποία τελικώς θα απορροφηθεί με τον ίδιο τρόπο που περιγράφηκε ανωτέρω. Οι σύμπλοκες ινσουλίνες με ψευδάργυρο θα διαλυθούν στην επιφάνεια των

κρυστάλλων, αν και είναι ενδεχόμενο να σχηματίσουν εξαμερείς μορφές οι οποίες θα πρέπει να διασπασθούν μέχρι να απορροφηθούν πλήρως. Οι κρύσταλλοι της ισοφανικής ινσουλίνης θα διασπασθούν κυρίως υπό την επίδραση ιστικών πρωτεασών³ αλλά και με απλή διάλυση, η οποία επηρεάζεται από την τοπική θερμοκρασία και την άσκηση¹⁰. Η απορρόφηση των σκευασμάτων ινσουλίνης μακράς δράσης είναι πιο προβληματική και απρόβλεπτη. Η παρατεταμένη δράση αυτών των ινσουλινών επομένως οφείλεται στη βραδεία απορρόφηση από το σημείο της ένεσης μέχρις ότου η ελεύθερη ινσουλίνη να εισέλθει στην κυκλοφορία, όπου η μεταβολική της κάθαρση είναι ίδια με της διαλυτής (Πίν. 1).

Άλλες οδοί χορήγησης

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως οι δύο κύριοι παράγοντες που καθορίζουν την κινητική της απορρόφησης της ινσουλίνης είναι η φυσική κατάσταση του σκευάσματος και η οδός χορήγησης. Η ινσουλίνη χορηγήθηκε από όλες τις οδούς, ο ρυθμός δε αύξησης στο πλάσμα και η ταχύτητα με την οποία επιτυγχάνεται ποικίλλει σημαντικά^{11,12}. Κατά την ενδοφλέβια χορήγηση η συγκέντρωση στο αίμα φθάνει στα υψηλότερα επίπεδα σε 1 λεπτό, ενώ ανάλογα υψηλά επίπεδα επιτυγχάνονται μετά την ενδορινική χορήγηση (10 λεπτά), και την ενδοπεριτοναϊκή, 15 λεπτά. Η ενδοπεριτοναϊκή και η ενδοφλέβια χορήγηση χρησιμοποιήθηκαν στις σπάνιες περιπτώσεις ασθενών που παρουσιάζουν αυξημένες απαιτήσεις ινσουλίνης λόγω αποικοδόμησης στο σημείο της υποδόριας χορήγησης. Αμφότερες επιτυγχάνουν ταχέως φυσιολογικά επίπεδα πλάσματος αλλά έχουν το μειονέκτημα ότι δεν προσφέρονται για καθημερινή χρήση. Η ενδορινική χορήγηση έχει ταχεία απορρόφηση και θα μπορούσε να χορηγηθεί σε διαβητικούς για την κάλυψη των γευμάτων, αλλά ευρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο.

Η ενδομυϊκή χορήγηση της ινσουλίνης εξασφαλίζει καλύτερη απορρόφηση από την υποδόρια ένεση που χορηγείται στο μηρό ή στο δελτοειδή όχι όμως και στην κοιλιά¹³. Η ταχύτερη απορρόφηση από τους μυς μπορεί να χρησιμοποιηθεί στις σπάνιες περιπτώσεις όπου η ενδοφλέβια χορήγηση δεν είναι εφικτή, σε διαβητική κετοοξέωση ή σε καταπληξία. Η απορρόφηση της ινσουλίνης γίνεται ακόμη ταχύτερη κατά την άσκηση, γεγονός που εγκλείει τον κίνδυνο υπογλυκαιμίας. Η ενδομυϊκή χορήγηση παρουσιάζει

μεγάλη διακύμανση στην απορρόφηση και δεν είναι αποδεκτή από τον ασθενή, το πλεονέκτημα δε της ταχύτερης απορρόφησης της ενδομυϊκής ένεσης στο γλουτό εξουδετερώνεται από το γεγονός ότι η υποδόρια ένεση στην κοιλιά παρουσιάζει την ίδια απορροφητικότητα¹⁴. Για τους λόγους αυτούς η ενδομυϊκή οδός δεν χρησιμοποιείται στην καθημερινή πράξη.

Παράγοντες επηρεάζοντες την υποδόρια απορρόφηση ινσουλίνης

Η υποδόρια απορρόφηση ινσουλίνης επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να αξιοποιηθούν καταλλήλως, ώστε να εξυπηρετήσουν την επίτευξη φυσιολογικών επιπέδων ινσουλίνης, αναλόγων προς τις μεταβολικές ανάγκες (Πιν. 2).

Δόση ινσουλίνης

Η αύξηση της δόσης της διαλυτής ινσουλίνης επιβραδύνει το χρόνο που χρειάζεται για την επίτευξη των υψηλότερων συγκεντρώσεων στο πλάσμα και επιμηκύνει τη διάρκεια δράσης¹⁵. Επίσης η αύξηση της δόσης της ισοφανικής ινσουλίνης προκαλεί ελάττωση της απορρόφησης σε σχέση με την χορηγούμενη δόση. Η πρακτική σημασία αυτής της πληροφορίας είναι ότι στην πράξη η δοσολογία της δεν πρέπει να μεταβάλλεται σε χρονικό διάστημα, μικρότερο των 2-3 ημερών.

Μίγματα ινσουλίνης

Στα παλιότερα σκευάσματα η πρωταμινική ινσουλίνη περιείχε υπερβολική ποσότητα πρωταμίνης, η περίσσεια της οποίας συνδεόταν με την

διαλυτή ινσουλίνη κατά την ανάμιξή τους. Εντούτοις στα νεότερα σκευάσματα, το ποσόν της πρωταμίνης είναι πολύ μικρό και πρακτικώς δεν μπορεί να συνδεθεί με την προστιθέμενη διαλυτή ινσουλίνη, με αποτέλεσμα η δράση της ινσουλίνης στα διάφορα μίγματα 70/30, 60/40 κ.ο.κ. να διατηρείται η ίδια, όπως και όταν χορηγούνται χωριστά, αλλά συγχρόνως¹⁶.

Η περίσσεια του ψευδαργύρου στις Lente ινσουλίνες τείνει να δεσμεύσει τη διαλυτή ινσουλίνη, έτσι ώστε η δράση της να ελαττώνεται. Η γνώση αυτή ίσχυσε επί πολλά χρόνια και εξακολουθεί να ισχύει και σήμερα. Φαίνεται όμως ότι ανάμιξη των δύο μορφών, αμέσως πριν την ένεση, δεν ελαττώνει σημαντικά την ελεύθερη ινσουλίνη έτσι ώστε οι δύο ινσουλίνες να μπορούν να χορηγηθούν σε μία ένεση¹⁵.

Συγκέντρωση ινσουλίνης

Θεωρητικώς η αύξηση της συγκέντρωσης της ενιεμένης ινσουλίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη με την ταχύτητα απορρόφησης από το σημείο της ένεσης. Δεδομένου όμως ότι στη χώρα μας κυκλοφορούν ινσουλίνες σταθερής συγκέντρωσης, 100 U/ml, ο παράγων αυτός δεν λαμβάνεται υπόψιν κατά το σχεδιασμό της θεραπευτικής τακτικής.

Διαφορές μεταξύ των σημείων των ενέσεων

Η ταχύτητα απορρόφησης της ινσουλίνης διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων περιοχών του σώματος και κατά φθίνουσα σειρά έχει ως εξής: άνω κοιλία > κάτω κοιλία > δελτοειδής > μηρός > γλουτός¹⁷. Με βάση αυτή την πληροφορία πρέπει να αποφεύγεται η τυχαία εναλλαγή

Πίνακας 2. Παράγοντες επηρεάζοντες την απορρόφηση ινσουλίνης

Σκεύασμα ινσουλίνης	Τρόπος χορήγησης	Διαφορές στο σημείο ένεσης	
		Μεταξύ σημείων	Στο ίδιο σημείο
Φυσική κατάσταση	Ένεση - με βελόνη	Οδός - υποδόρια	Ζέστη + Ψύχος -
Συγκέντρωση	- jet	- ενδομυϊκή	Άσκηση +
Όγκος διαλύματος	- έγχυση	Βάθος	Αδρεναλίνη -
Δόση		Ανατομική περιοχή	Υπογλυκαιμία -
Προέλευση		Λιποϋπερτροφία	Κετοοξέωση + Κάπνισμα - (PGE ₁ , φεντολαμίνη, απροτινίνη) +

των σημείων ένεσης της ινσουλίνης, διότι αυξάνει η διακύμανση της απορρόφησης γεγονός που μπορεί να επηρεάσει δυσμενώς τη ρύθμιση του διαβήτου.

Τρόπος χορήγησης της υποδόριας ένεσης

Κατά την υποδόρια χορήγηση της ινσουλίνης, η σύριγγα κρατιέται κάθετη προς το δέρμα και η βελόνη, μήκους 12-13 mm, εισέρχεται ολόκληρη στον υποδόριο ιστό. Ο τρόπος αυτός της ένεσης επιτρέπει πολλές φορές στη βελόνη να διαπεράσει τον υποδόριο ιστό και να φθάσει μέσα στους μυς, απ' όπου η απορρόφησή της θα είναι ταχύτερη. Στην περίπτωση αυτή η έναρξη δράσης είναι ταχύτερη και τα επίπεδα στο αίμα υψηλότερα^{18,19}. Ως εκ τούτου είναι προτιμότερο όπως η ένεση γίνεται σε υπεγειριμένη περιοχή του δέρματος, γεγονός που διασφαλίζει ότι η ινσουλίνη θα χορηγηθεί στον υποδόριο ιστό. Σημειώνεται ότι το βάθος της ένεσης, εφόσον η βελόνη ευρίσκεται υποδοριώς, δεν επηρεάζει την απορρόφηση της ινσουλίνης. Τελευταίως κυκλοφορούν βελόνες 0,8-0,6 mm για να αποφεύγεται η ενδομυϊκή χορήγηση.

Μεταβολές της απορρόφησης στο ίδιο σημείο ένεσης

Η απορρόφηση της ινσουλίνης μπορεί να επηρεασθεί από διάφορους παράγοντες, εξωγενείς και ενδογενείς (Πίν. 2). Η γνώση και η αξιοποίηση αυτών των παραμέτρων μπορεί να βελτιώσει τη ρύθμιση του διαβήτου.

Η **αύξηση της θερμοκρασίας** του περιβάλλοντος και η τοπική θέρμανση του σημείου ένεσης, επιταχύνουν την απορρόφηση της ινσουλίνης²⁰. Η αύξηση της θερμοκρασίας θα αυξήσει τον αριθμό των ανοικτών τριχοειδών, ενώ η συστηματική ή τοπική ψύξη, προκαλούν αγγειοσύσπαση και επιφέρουν το αντίθετο αποτέλεσμα.

Η **μάλαξη** αυξάνει την απορρόφηση της ινσουλίνης, προφανώς μέσω επίτασης της διασποράς της ενεθείσης ποσότητας.

Η **φυσική άσκηση** αυξάνει την απορρόφηση, ιδιαίτερα όταν η υποδόρια ένεση διενεργείται κοντά στους ασκούμενους μυς, δημιουργώντας ένα είδος «μάλαξης» του σημείου ένεσης²¹. Η άσκηση παράλληλα θα αυξήσει τη θερμοκρασία και κατά συνέπεια τον αριθμό των ανοικτών τριχοειδών. Επομένως η επίδραση της άσκησης θα είναι λιγότερο εμφανής όταν η ένεση γίνει στην κοιλιά, αν και στο σύνολο θα υπάρχει μια μικρή επίδραση στην απορρόφηση της ινσουλίνης. Υπεν-

θυμίζεται ότι στα μη διαβητικά άτομα, η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο πλάσμα ελαττώνεται κατά την διάρκεια της άσκησης, κυρίως λόγω αμέσου αναστολής της έκκρισης της ινσουλίνης από την αδρεναλίνη. Ως εκ τούτου ο διαβητικός ασθενής, ο οποίος διενήργησε ένεση ινσουλίνης και στη συνέχεια υποβάλλεται σε φυσική άσκηση ευρίσκεται διπλά σε μειονεκτική θέση, με αυξημένο κίνδυνο υπογλυκαιμίας και πρέπει να του δοθούν ανάλογες οδηγίες.

Η **κετοοξέωση** επιταχύνει την απορρόφηση της ινσουλίνης ενώ η υπογλυκαιμία την επιβραδύνει²². Το **κάπνισμα**, εκτός των άλλων σοβαρών ανεπιθύμητων συστηματικών επιδράσεων, τείνει να ελαττώσει την απορρόφηση της ινσουλίνης.

Επίπεδα ινσουλίνης πλάσματος

Η υποδόρια ένεση της ινσουλίνης αποσκοπεί στην επίτευξη επιπέδων στο πλάσμα τα οποία θα προσομοιάζουν με τα φυσιολογικά και θα ανταποκρίνονται στις ανάγκες για το μεταβολισμό της γλυκόζης. Ακρογωνιαίος λίθος αυτής της επίδρασης είναι η επίτευξη του καταλληλότερου συνδυασμού στη δεδομένη χρονική στιγμή.

Προκειμένου να επιτευχθούν φυσιολογικά επίπεδα ινσουλίνης στο πλάσμα, πρέπει να ληφθούν υπόψιν τα δεδομένα, που αφορούν τη γλυκόζη και την ινσουλίνη του πλάσματος των φυσιολογικών ατόμων²³.

1. Στα φυσιολογικά άτομα, η γλυκόζη αίματος δεν αυξάνει σημαντικά κατά τη διάρκεια των γευμάτων και σπανίως υπερβαίνει τα 130 mg/dl. Η γλυκόζη αίματος παραμένει σταθερή κατά τη διάρκεια της νύκτας και δεν ελαττώνεται στο μέσον αυτής, ούτε αυξάνει κατά τις πρωινές ώρες.

2. Η έκκριση της ινσουλίνης αρχίζει την ώρα του γεύματος, και φθάνει στο υψηλότερο σημείο 30-40 λεπτά μετά την έναρξη, παρά τη συνεχιζόμενη μεταβολική κάθαρση. Η έκκριση της ινσουλίνης ελαττώνεται ταχέως ενώ η απορρόφηση των τροφών από το έντερο ελαττώνεται επίσης, έτσι ώστε η συγκέντρωση στο πλάσμα στο τέλος των 2 ωρών, είναι μόνο 30% της κορυφαιάς τιμής και επανέρχεται τελείως στα φυσιολογικά όρια, στο τέλος των 4 ωρών. Τέλος η έκκριση και η κάθαρση της ινσουλίνης είναι σταθερές κατά τη διάρκεια της νύκτας.

Η ινσουλινοθεραπεία αποσκοπεί στη μίμηση των παραπάνω καταστάσεων και για το σκοπό αυτό αντιμετωπίζονται χωριστά οι ανάγκες των γευμάτων και οι βασικές απαιτήσεις κατά τα με-

σοδιαστήματα, ιδίως κατά τη νύχτα.

Η **ινσουλίνη των γευμάτων** πρέπει να απορροφηθεί όσο γίνεται ταχύτερα και για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ένα σκεύασμα ταχείας δράσης, το οποίο ενίεται σε μια περιοχή ταχείας απορρόφησης, όπως η κοιλιά ή ο βραχίονας. Δεδομένου ότι απαιτείται συγχρονισμός της απορρόφησης της ινσουλίνης με τα επίπεδα γλυκόζης πλάσματος, η ινσουλίνη πρέπει να χορηγείται 30-60 λεπτά πριν από το γεύμα²⁴.

Διάφοροι παράγοντες ευνοούν την απορρόφηση της ινσουλίνης όπως η ελαφρά μάλαξη του σημείου ένεσης, ακόμη και για λίγα λεπτά, η οποία διενεργούμενη τακτικά μπορεί να βελτιώσει μακροπρόθεσμα τη ρύθμιση του διαβήτη τύπου I. Σε πειραματικό επίπεδο έχουν δοκιμασθεί ουσίες οι οποίες προκαλούν τοπικώς αγγειοδιαστολή, όπως η προσταγλανδίνη E₁, η φεντολαμίνη ή ελαττώνουν την τοπική αποικοδόμηση της ινσουλίνης, όπως ο αναστολέας της πρωτεάσης, απροτινίνη. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι η μελλοντική εφαρμογή των μονομερών ινσουλινών, οι οποίες έχουν ταχεία απορρόφηση από τον υποδόριο ιστό και ταχεία κάθαρση στην κυκλοφορία, θα αναταποκρίνονται καλύτερα στις απαιτήσεις της γευματικής ινσουλιναίμιας^{2,4,20}.

Τα **βασικά επίπεδα ινσουλίνης** που απαιτούνται κατά τη διάρκεια της νύκτας, εξασφαλίζονται με τη χορήγηση σκευασμάτων ινσουλίνης ενδιάμεσης ή μακράς δράσης. Η ινσουλίνη πρέπει να ενίεται σε περιοχή όπου η απορρόφησή της είναι βραδεία π.χ. μηρός ή γλουτός. Η ένεση πρέπει να διενεργείται σε υπεγειρμένη περιοχή του δέρματος, ώστε να αποφεύγεται η ενδομυϊκή χορήγηση, η οποία επιταχύνει την απορρόφηση της ινσουλίνης. Τέλος πρέπει να εξηγείται στον άρρωστο ότι δεν πρέπει να εναλλάσσονται τυχαία τα σημεία της ένεσης αλλά ότι η ένεση σε μία περιοχή εξυπηρετεί την σκοπιμότητα που αναπτύχθηκε παραπάνω.

Κινητική κυκλοφορούσης ινσουλίνης

Αντισώματα κατά της ινσουλίνης

Μετά την απορρόφηση της ινσουλίνης στην κυκλοφορία είναι ενδεχόμενο ότι αυτή θα δεσμευθεί από αντισώματα τα οποία έχουν παραχθεί στο παρελθόν, από την προηγούμενη θεραπευτική χρήση της ινσουλίνης. Τα αντισώματα αυτά κυκλοφορούν στον ορό των διαβητικών ασθενών, δεσμεύουν την ινσουλίνη και την εμπο-

δίζουν να δράσει στους ιστούς. Από την άποψη αυτή μοιάζουν με μία ενδιάμεση ρυθμιστική αποθήκη του πλάσματος, η οποία όμως μπορεί στο σύνολο να τροποποιήσει την μεταβολική επίδραση της χορηγούμενης ινσουλίνης. Αντισώματα κατά της ινσουλίνης περιγράφηκαν από τη δεκαετία του 1940 και προσδιορίστηκαν από τους Bergson και Yalow στα τέλη της δεκαετίας του 1959. Η παρατήρηση των τελευταίων ερευνητών οδήγησε στην ανάπτυξη της ραδιοανοσολογικής μεθόδου προσδιορισμού της ινσουλίνης και των άλλων ορμονών, που υπήρξε μία από τις σημαντικότερες μεθόδους στην ιστορία της ενδοκρινολογίας και της ιατρικής γενικότερα.

Τα αντισώματα κατά της ινσουλίνης είναι της τάξης IgG, αλλά επίσης και IgE και άλλων Ig κατηγοριών. Ο σχηματισμός των αντισωμάτων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. α) *Η προέλευση και η καθαρότητα της ινσουλίνης.* Η ανθρώπινη ινσουλίνη αν και είναι λιγότερο ανοσογόνος από τη ζωική, εντούτοις προκαλεί τη δημιουργία αντισωμάτων. Οι λόγοι δεν είναι σαφείς και οπωσδήποτε το πρόβλημα δεν είναι σημαντικό. Πιθανολογείται όμως ότι η ανθρώπινη ινσουλίνη δεν είναι απολύτως σταθερή στο διάλυμα και διασπάται σε προϊόντα κατά την παρασκευή και κάθαρση της, ανεξάρτητα με τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε. Επιπλέον η ινσουλίνη ενιέμενη υποδοριώς υφίσταται παραπέρα αποικοδόμηση στο σημείο της ένεσης, σε μορφές που αναγνωρίζονται από το σώμα σαν ξένες πρωτεΐνες²⁵. β) *Φαρμακευτική μορφή.* Η διαλυτή ινσουλίνη είναι λιγότερο ανοσογόνος από τις τροποποιημένες μορφές¹⁵. γ) *Ο τύπος της ινσουλινοθεραπείας.* Οι συχνές ενέσεις ινσουλίνης αυξάνουν την πιθανότητα σχηματισμού αντισωμάτων. δ) *Γενετικοί παράγοντες.* Η ανάπτυξη αντισωμάτων έχει και γενετική καταβολή, όπως προκύπτει από διάφορες μελέτες, στις οποίες βρέθηκε ότι η δέσμευση της ινσουλίνης από αντισώματα είναι μικρότερη σε άτομα με αντιγόνα των λευκών αιμοσφαιρίων (Human Leucocyte Antigen, HLA) τύπου DR3. Σε μελέτη διαβητικών παιδιών και των γονέων τους, ελαττωμένη δέσμευση της ινσουλίνης βρέθηκε όταν το γονίδιο είχε ομόζυγο έκφραση. Σε άλλες ανάλογες μελέτες βρέθηκε ότι ορισμένα άλλα γονίδια όπως τα HLA-A2B44 και B44DR7 αυξάνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης αντισωμάτων¹⁵.

Η διεθνής βιβλιογραφία των προηγούμενων δεκαετιών δίνει πολλές πληροφορίες για την αντιγονικότητα των ινσουλινών χοίρειας ή βό-

ειας προέλευσης, οι οποίες όμως σήμερα πρέπει να θεωρούνται παρωχημένες. Η ισχύουσα άποψη για το ρόλο των αντισωμάτων στην κινητική της ινσουλίνης είναι ότι έχουν μικρή σημασία, παρά το γεγονός ότι υπάρχουν πληροφορίες ότι μπορούν να δεσμεύσουν την ινσουλίνη και να ελαττώσουν το ποσόν της ελεύθερης που προσφέρεται στους ιστούς. Ο κύριος λόγος είναι ότι ο τίτλος των αντισωμάτων είναι μικρός και ανάλογο είναι το ποσόν της δεσμευομένης ινσουλίνης²⁶.

Αποικοδόμηση και απέκκριση της ινσουλίνης

Η περιφερική αποικοδόμηση της ινσουλίνης και η απέκκριση από τους νεφρούς σε φυσιολογικές συνθήκες δεν επηρεάζει τα επίπεδα της ινσουλίνης του πλάσματος. Η ινσουλίνη αποικοδομείται περιφερικά στο ήπαρ, κατά 60-80%, στους νεφρούς κατά 10-20% και το υπόλοιπο στους σκελετικούς μυς, στο λιπώδη ιστό, στα ερυθρά αιμοσφαίρια, στους ινοβλάστες, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στην υπόφυση και στα β-κύτταρα των νησιδίων.

Η απομάκρυνση της ινσουλίνης από το ήπαρ, επιτελείται με αποικοδόμηση από τους υποδοχείς της, ενώ στους νεφρούς υπάρχουν δύο μηχανισμοί²⁷. Περίπου τα δύο τρίτα της ινσουλίνης απομακρύνονται με παθητική διήθηση στο σπείραμα, επαναρρόφηση και αποικοδόμηση στα εγγύς σωληνάκια, ενώ περίπου 1% αποβάλλεται στα ούρα. Το υπόλοιπο ένα τρίτο της νεφρικής κάθαρσης της ινσουλίνης διενεργείται στα μετασπειραματικά περισωληναρικά τριχοειδή, απ' όπου προσλαμβάνεται από τα κύτταρα των ουροφόρων σωληναρίων και αποικοδομείται. Είναι ενδιαφέρον ότι σε περιπτώσεις ηπατικής και νεφρικής ανεπαρκείας τελικού σταδίου, τα επίπεδα της ινσουλίνης στο πλάσμα αυξάνουν λόγω ελάττωσης της περιφερικής αποικοδόμησης²⁸.

Μεταβολική κάθαρση, όγκος κατανομής, ημιπερίοδος ζωής και εξαφάνιση της ινσουλίνης από το πλάσμα

Ο ρυθμός εξαφάνισης της ινσουλίνης από το πλάσμα ακολουθεί μια πολυεκθετική καμπύλη. Η ινσουλίνη κατανέμεται σε τρία διαμερίσματα από τα οποία το πρώτο αντιστοιχεί στο πλάσμα, ενώ τα άλλα δύο είναι εξωαγγειακά. Στο ένα εξ αυτών η συγκέντρωση της ινσουλίνης ισορροπεί γρήγορα με του πλάσματος, ενώ στο άλλο βραδέως²⁹.

Η χρονική περίοδος κατανομής στο τελευταίο διαμέρισμα αντιστοιχεί με την ελάττωση

της γλυκόζης πλάσματος λόγω κατανάλωσής της στους ιστούς-στόχους της ινσουλίνης.

Η ινσουλίνη εξαφανίζεται σχετικά γρήγορα από το πλάσμα, και η ημιπερίοδος ζωής είναι 1-3 λεπτά στους υγιείς και 5-7 λεπτά στους διαβητικούς, ενώ η βιολογική ημιπερίοδος είναι 90 λεπτά³⁰. Η ολική μεταβολική κάθαρση της ινσουλίνης είναι 800-900 ml/min, με διακύμανση μεταξύ των διαφόρων ατόμων περίπου 20%. Ο όγκος κατανομής της ανθρώπινης ινσουλίνης είναι υψηλότερος στους διαβητικούς απ' ότι στους υγιείς (0,168 l/kg VS 0,109 l/kg). Διάφοροι παράγοντες φαίνεται ότι επηρεάζουν την κάθαρση της ινσουλίνης. Η κάθαρση ελαττώνεται σε μη διυλιζόμενους ουραιμικούς ασθενείς, στην κίρρωση του ήπατος και στην κετοοξέωση, ενώ αυξάνει πρακτικώς μόνο στη μεγαλακρία. Η μεταβολική κάθαρση της ινσουλίνης είναι φυσιολογική στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 και 2 καθώς και στην παχυσαρκία.

Summary

Harsoulis F. The pharmacokinetics of insulin. Hellen Diabetol Chron 1995; 2: 93-101.

Insulin substitution therapy for diabetic patients poses several intriguing problems due to the inability of mimicking the complex interrelated mechanisms controlling the normal secretion. Insulin absorption depends critically on the physical state of the insulin, short-acting being absorbed much more rapidly than protamine or zinc insulins. The hexameric insulin at injection sites must dissociate into monomers before absorption can occur. The subcutaneous absorption rate of insulin falls with increasing volume or concentration of the injected preparation and is affected by heating, cooling, exercise or massage due to alteration in capillary recruitment and/or dissociation of insulin hexamers. Subcutaneous insulin absorption is too slow and prolonged to achieve physiological insulinemic profiles and is also extremely variable both between and within individuals. Subcutaneous absorption is faster from the abdomen than the leg. Insulin given intranasally or intraperitoneally is absorbed faster. Intramuscular absorption is faster and variable but comparable with subcutaneous absorption in the abdomen. Plasma levels of free insulin may be affected by its binding to insulin antibodies and by its clearance from the blood-

stream. Insulin clearance occurs mainly in the liver (60-80%) and kidneys (10-20%) and circulating levels may be elevated in renal failure and in cirrhosis due to impaired clearance.

Βιβλιογραφία

1. Bliss M. The discovery of Insulin. Toronto, McClelland and Stewart Ltd, 1982.
2. Weigle DS. Pulsatile secretion of fuel-regulatory hormones. *Diabetes* 1987; 36: 764-75.
3. Home PD, Alberti KGMM. Insulin therapy. In: Alberti KGMM, De Fronzo RA, Keen H, Zimmet P (eds). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Vol 1, J Wiley, Chichester, 1992: 831-64.
4. Binder G, Lauritzen T, Faber O, Pramming S. Insulin pharmacokinetics. *Diabetes Care* 1984; 7: 188-99.
5. Fulcher GR, Walker M, Alberti KGMM. The assessments of insulin action in vivo. In: Alberti KGMM, DeFronzo RA, Keen H, Zimmet P (eds). *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Vol 1, J Wiley, Chichester 1992: 513-30.
6. Binder C. A theoretical model for the absorption of soluble insulin. In: Brunetti P, Alberti KGMM, Albisser AM, Hepp KD, Massi Renedetti (eds). *Artificial systems for insulin delivery*. New York, Raven Press, 1983: 53-8.
7. Binder C. Absorption of injected insulin. *Acta Pharmacol Toxicol* 1969; 27(suppl 2): 1-87.
8. Turner RC, Grayburn JA, Newman GB, Nabarro JDN. Measurement of insulin delivery rate in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1971; 33: 279-86.
9. Vora JP, Owens DR, Dolbier J, et al. Recombinant DNA derived monomeric insulin analogue: comparison with soluble human insulin in normal subjects. *Br Med J* 1988; 297: 1236-9.
10. Thow JC, Johnston AB, Antsiferov M, Home PD. Effect of raising injection site temperature on isophane insulin crystal dissociation. *Diabetes Care* 1989; 12: 432-4.
11. Moses AC, Gordon GS, Carey MC, Flier IS. Insulin administered intranasally as an insulin bile salt aerosol. Effectiveness and reproducibility in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1983; 32: 1040-47.
12. Micossi P, Cristallo M, Librentic et al. Free insulin profiles after intraperitoneal, intramuscular and subcutaneous insulin administration. *Diabetes Care* 1986; 9: 575-8.
13. Frid A, Ostman J, Linde B. Hypoglycemia risk during exercise after intramuscular thigh injection of insulin in IDDM. *Diabetes Care* 1990; 13: 473-77.
14. Vaag A, Handberg A, Lauritzen M, et al. Variation in absorption of NPH insulin due to intramuscular injection. *Diabetes Care* 1990; 13: 74-76.
15. Galloway JA, deShazo RD. Insulin chemistry and pharmacology. Insulin allergy, resistance and lipodystrophy. In: Rifkin H, Porte D (eds). *Diabetes Mellitus, Theory and Practice*, 4th ed. New York, Elsevier, 1990: 497-513.
16. Davis SN, Thompson CJ, Brown MD, et al. A comparison of the pharmacokinetics and metabolic effects of human regular and NPH insulin mixtures. *Diabetes Res Clin Pract* 1991; 13: 107-18.
17. Koivisto VA. Various influences on insulin absorption. *Neth J Med* 1985; 28(suppl 1): 25-8.
18. Guerra SMO, Kitabchi AE. Comparison of the effectiveness of various routes of insulin injections: Insulin levels and glucose response in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42: 869-.
19. Frid A, Linden B. Where do lean diabetics inject their insulin? A study using computed tomography. *Br Med J* 1986; 292: 1638.
20. Berger M, Cüppers HJ, Hegner H, et al. Absorption Kinetics and biologic effects of subcutaneously injected insulin preparations. *Diabetes Care* 1982; 5: 77-91.
21. Thow JC, Johnson AB, Antsiferov M, Home PD. Exercise augments the absorption of isophane (NPH) insulin. *Diabetic Med* 1989; 6: 342-5.
22. Fernqvist-Forbes E, Linde B, Gunnarsson R. Insulin absorption and subcutaneous blood flow in normal subjects during insulin induced hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 619-23.
23. Kruszynska YT, Home PD, Hanning J, Alberti KGMM. Basal and 24-h c-peptide and insulin secretion in normal man. *Diabetologia* 1987; 30: 16-21.
24. Kinmonth AL, Baum JD. Timing of pre-breakfast insulin injection and postprandial metabolic control in diabetic children. *Br Med J* 1980; 280: 604-6.
25. Home PD, Mann NP, Hutchison AS, et al. A fifteen-month double-blind cross-over study of the efficacy and antigenicity of human and pork insulins. *Diabet Med* 1984; 1: 93-8.
26. Francis AJ, Hanning I, Alberti KGMM. The influence of insulin antibody levels on the plasma profiles and action of subcutaneously injected human and bovine short acting insulin. *Diabetologia* 1985; 28: 330-4.
27. Rabkin R, Ryan MP, Duckworth WC. The renal metabolism of insulin. *Diabetologia* 1984; 27: 351-7.
28. Χαρσούλης Φ. Παθογένεια των ενδοκρινικών διαταραχών της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. Εισ: Παπαδημητρίου Μ και συν (εκδότες) *Νεφρολογία, Τόμος Ι, Εκδόσεις Σιώκη, Θεσσαλονίκη*, 1988: 358-67.
29. Sherwin RS, Kramer KJ, Tobin JD, et al. A model of the kinetics of insulin in man. *J Clin Invest* 1974; 53: 1481-92.
30. Brogden RN, Heel RC. Human insulin. A review of its biological activity, pharmacokinetics and therapeutic use. *Drugs* 1987; 34: 350-71.