

# Farmakološka svojstva inzulina i zlorporaba u sportu

---

Varga, Lana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:688200>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Lana Varga

*Farmakološka svojstva inzulina i zlouporaba u sportu*

*DIPLOMSKI RAD*

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Farmakologija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmakologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky na mentorstvu koje se može samo poželjeti te na svom prenesenom znanju koje je značajno povećalo moju ljubav prema farmakologiji, ali i farmaciji općenito.

Hvala cijeloj mojoj obitelji što su mi uvijek bili oslonac i izvor utjehe, a posebno mojoj majci i sestri koje uvijek znaju reći pravu riječ u pravom trenu.

Svim mojim prijateljima, od onih koje znam duže nego što ih ne znam, do onih koji su mi podarili čast svog prijateljstva kasnije u životu, hvala što ste vidjeli u meni ono što ja nekad nisam i time mi dali dodatan vjetar u leđa kada je najviše trebalo.

# **Sadržaj**

1	UVOD .....	1
1.1	Inzulin kroz povijest .....	1
1.2	Što je <i>bodybuilding</i> i što podrazumijeva?.....	4
2	OBRAZLOŽENJE TEME .....	7
3	MATERIJALI I METODE .....	8
4	REZULTATI.....	9
4.1	Inzulin.....	9
4.1.1	Struktura i biosinteza.....	9
4.1.2	Distribucija inzulina .....	11
4.1.3	Receptori za inzulin.....	13
4.1.4	Fiziološka uloga inzulina .....	15
4.1.5	Patofiziološka stanja povezana s inzulinom.....	19
4.2	Inzulin kao lijek .....	21
4.2.1	Indikacije.....	21
4.2.2	Vrste inzulina i inzulinske terapije.....	24
4.2.3	Miješani inzulinski pripravci.....	34
4.3	Inzulin kao doping sredstvo.....	37
4.3.1	Zabranjena sredstva u sportu.....	37
4.3.2	Izvanterapijska primjena inzulina kod <i>bodybuildera</i> .....	39
4.3.3	Polifarmacija lijekova za poboljšanje performansa.....	40
4.4	Ispitivanje učestalosti izvanterapijske uporabe inzulina među <i>bodybuilderima</i> .....	44
4.4.1	Sportaši na terapiji inzulinom .....	50
5	RASPRAVA.....	53
5.1	Nuspojave i štetne posljedice uporabe inzulina.....	53
5.2	Budućnost inzulina .....	60
5.2.1	Nove generacije inzulinskih formulacija.....	60
5.2.2	Nove metode dostave inzulina .....	67
6	ZAKLJUČCI.....	75
7	POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA .....	77
8	LITERATURA.....	78
	SAŽETAK.....	83
	SUMMARY .....	84

# 1 UVOD

## 1.1 Inzulin kroz povijest

Inzulin je prirodno prisutan peptidni hormon kojeg izlučuju  $\beta$ -stanice Langerhansovih otočića gušterače, a sama riječ *inzulin* potječe od latinske riječi za otočić - *insula*. Ključni je regulator homeostaze glukoze, olakšavajući unos glukoze u jetru, skeletne mišiće i masno tkivo. Frederick Sanger je 1951. odredio primarnu strukturu inzulina, no njegov mehanizam djelovanja bio je nepoznat sve do 1970-ih kada je identificiran inzulinski receptor, kasnije prepoznat kao tirozin kinaza što je bilo revolucionarno za naše razumijevanje funkcije inzulina (White i Kahn, 2021; Benni i Patil, 2016).

Krajem 19. stoljeća, ustanovljeno je da Langerhansovi otočići proizvode hormon koji regulira metabolizam ugljikohidrata kojeg je 1909. de Meyer nazvao *inzulin* (Mathieu i sur., 2021). Fred Banting, 22-godišnji kirurg, je bio začetnik ideje da se iz gušterače može izolirati aktivni ekstrakt koji bi regulirao glukozu u krvi. Ideju je pretvorio u djelo uz pomoć profesora fiziologije J. J. R. Macleoda i studenta Charlesa Besta sa Sveučilišta u Torontu (Llewellyn, 2017). Banting i Best su dokazali postojanje endokrine funkcije gušterače podvezivanjem duktusa, koji spaja tanko crijevo i gušteraču, što je rezultiralo atrofijom egzokrinog dijela gušterače uz očuvanje Langerhansovih otočića i normoglikemiju (Mathieu i sur., 2021). Prva inzulinska formulacija bila je ekstrahirana iz pseće gušterače. Za svoja su istraživanja koristili pse sve dok nisu iskoristili sve laboratorijske primjerke te se u očaju čak okrenuli psima lualicama, no shvatili su da mogu raditi i s goveđim i svinjskim gušteračama, što im je značajno olakšalo istraživanje (Llewellyn, 2017). J. B. Collip, biokemičar-farmaceut, pridružio se timu pomažući u pročišćavanju i optimizaciji dobivenog ekstrakta za primjenu na ljudima. Prva osoba koja je uspješno liječena od dijabetesa inzulinom bio je 14-ogodišnji Leonard Thompson u siječnju 1922. On je proživio još narednih 13 godina, što je predstavljalo veliki uspjeh s obzirom na to da je do tada dijagnoza dijabetesa bila jednaka izrečenoj smrtnoj kazni (Mathieu i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020). Do kolovoza iste godine, uspješno su tretirali grupu pacijenata, uključujući i Elizabeth Hughes, kćer američkog političara Charlesa Evansa Hughesa. Elizabeth je dijagnosticiran dijabetes 1918. te je njezina bitka za život bila poznata na nacionalnoj razini. Banting i suradnici su ju našli na pragu smrti od gladi, s obzirom na to da je kalorijska restrikcija bila jedini oblik terapije u to vrijeme. Elizabeth je na kraju doživjela 73 godine života kada je umrla od upale pluća. Banting i Macleod su 1923. osvojili Nobelovu nagradu za fiziologiju ili

medicinu za otkriće inzulina. Ubrzo nakon toga, došlo je do spora oko zasluga i na kraju je Banting podijelio svoju nagradu s Bestom, a Macleod je svoju nagradu podijelio s J. B. Collipom (Mathieu i sur., 2021; Llewellyn, 2017).

Kako se vijest o otkriću inzulina širila globalno, pojavila se hitna potreba za povećanjem njegove proizvodnje. Prvobitno pokušavajući riješiti probleme proizvodnje samostalno, Banting i njegov tim su se naposljetku udružili s tvrtkom Eli Lilly & Co. kako bi započeli s prvom masovnom proizvodnjom inzulina koristeći njihove tehnike ekstrakcije iz životinja. U suradnji s Eli Lillyjem i njihovim glavnim kemičarom Georgeom Waldenom, poboljšali su čistoću i prinos inzulina te postigli standardizaciju izoelektričnim taloženjem i naknadnom rekristalizacijom. Kako bi osigurali dosljednu potentnost između serija, uvedeni su biološki testovi za procjenu potencijala snižavanja šećera u krvi svake pripremljene formulacije. To je dovelo do i danas korištene prakse označavanja svake bočice inzulina s brojem jedinica za snižavanje šećera u krvi koje sadrži. Njihovi napori rezultirali su brzim uspjehom, a inzulin je postao komercijalno dostupan na širokoj razini već 1923. godine. Iste godine, danski znanstvenik Augusta Krogh osnovao je Nordisk Insulinlaboratorium, vođen željom da donese proizvodnju inzulina u Dansku kako bi liječio svoju ženu koja je imala dijabetes. Ova tvrtka je na kraju postala Novo Nordisk, drugi najveći svjetski proizvođač inzulina, odmah iza Eli Lilly & Co. (Mathieu i sur., 2021; Llewellyn, 2017).

Godine 1939. FDA (Američka agencija za hranu i lijekove) je prvi put odobrila inzulin za liječenje dijabetesa melitusa (Benni i Patil, 2016). Rani inzulinski lijekovi bili su prilično nečisti prema današnjim standardima (Llewellyn, 2017). Dugi niz godina inzulin se proizvodio iz goveđih i svinjskih gušterača, koje su imale farmakokinetička i farmakodinamička svojstva slična ljudskom inzulinu, unatoč razlikama u slijedu aminokiselina (Mathieu i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020). Ovi rani lijekovi su zbog svoje niske koncentracije zahtijevali primjenu u velikim dozama, što je dovodilo do nelagode i čestih reakcija na mjestu injekcije zbog značajnih proteinskih nečistoća. Unatoč tim problemima, rane formulacije inzulina spasile su bezbroj života od onoga što je nekada bila sigurna smrt zbog dijabetesa. Veliki tehnološki napredci u inzulinu nisu se pojavili sve do sredine 1930-ih, kada su se počele pojavljivati prve formulacije inzulina dugog djelovanja (Llewellyn, 2017). Zbog trajanja djelovanja 4 - 6 sati, rana terapija inzulinom zahtijevala je čestu primjenu od više dnevnih injekcija inzulina, uzrok velike nepraktičnosti supkutane terapije (Mathieu i sur., 2021). Zato je smanjenje broja dnevnih injekcija i razvoj inzulina dužeg djelovanja bio sljedeći korak u razvoju. Hans Christian Hagedorn i B. Norman Jensen otkrili su 1936. da dodavanje protamina (proteina iz sjemena pastrve) može produžiti učinke inzulina kristalizacijom s inzulinskim heksamerima i

odgađanjem oslobađanja aktivnih inzulinskih monomera u cirkulaciju (Mathieu i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020). Iste su godine Scott i Fisher predložili dodavanje cinka inzulinu kako bi se stvorio kompleks protamina, cinka i inzulina, koji bi imao učinak u trajanju 24 - 36 sati. Godine 1946. uveden je Neutralni Protamin Hagedorn (NPH) inzulin, također poznatog kao Izofan. Bio je to prvi inzulin srednjeg djelovanja, pružajući sporiji početak i duže trajanje djelovanja (4 – 12 h) u usporedbi s regularnim inzulinom (Mathieu i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020; Llewellyn, 2017). NPH inzulin mogao se miješati s regularnim, brzodjelujućim inzulinom, nudeći bifazični obrazac oslobađanja za bazalnu i prandijalnu pokrivenost. Ova se kombinacija koristila 2x dnevno i bila je standard inzulinske terapije godinama. U 1950-ima razvijene su suspenzije inzulina lente (semilente, lente i ultralente), koristeći različite količine cinka kako bi se proizvela različita dugotrajna farmakokinetička svojstva bez korištenja protamina. To je omogućilo mnogim pacijentima prelazak s NPH inzulina na jednu jutarnju dozu Lente inzulina, iako su neki trebali i večernju dozu za održavanje potpune kontrole glukoze tijekom 24 sata. Međutim, na kraju su ukinuti zbog varijabilnosti i nestabilnosti. Kasnije su razvijene unaprijed miješane formulacije inzulina, temeljene na zapadnjačkoj dijeti, obično kombinirajući 30% regularnog inzulina sa 70% NPH inzulina. Iako su ove mješavine imale za cilj pojednostaviti terapiju inzulinom, često su rezultirale suboptimalnom kontrolom glukoze i visokim stopama komplikacija povezanih s dijabetesom, što je označilo izazovno razdoblje u povijesti terapije inzulinom. Razumijevanje fiziologije  $\beta$ -stanica i važnosti stroge kontrole glikemije na kraju je dovelo do razvoja režima s više dnevnih injekcija, što je bliže normalnoj fiziologiji, poboljšavajući upravljanje dijabetesom (Mathieu i sur., 2021; Llewellyn, 2017).

Godine 1963. inzulin je postao prvi ljudski protein koji je kemijski sintetiziran, što je dovelo do visoko pročišćenih inzulina do 1970-ih uz nove kromatografske tehnike koje su odvajale čisti inzulin od proinzulina i drugih imunogenih peptida. Ovi napreci značajno su smanjili imunogenost i alergijske reakcije povezane s ranijim inzulinskim proizvodima životinjskog porijekla (Mathieu i sur., 2021). Osamdesetih godina uveden je humani inzulin proizveden rekombinantnom DNA tehnologijom u *E. coli*, a bilo kakve brige vezane uz kontaminaciju inzulina bakterijskim produktima su se vrlo rano potvrdile kao neutemeljenima (Mathieu i sur., 2021; Home i Itzhak, 2020). FDA je 1982. odobrila prvi rekombinantni humani inzulin, Humulin R i Humulin NPH, proizvode Eli Lilly & Co., koji su ubrzo potisnuli inzuline životinjskog porijekla s tržišta koje se danas može naći u svega nekoliko država (Hirsch i sur., 2020; Llewellyn, 2017). Dugi niz godina inzulin je bio uobičajeno dostupan u standardnim koncentracijama od 40 IU/mL, a kasnije i 100 IU/mL. Međutim, postalo je očito da osobe s teškom inzulinskom rezistencijom moraju ubrizgavati neugodno velike količine pri tim

koncentracijama. To je dovelo do razvoja ultrakoncetriranih oblika inzulina. Koncentriranje humanog inzulina obično produžuje njegovo djelovanje (Mathieu i sur., 2021).

Rana terapija zamjene inzulina zahtijevala je višestruke dnevne injekcije jedne vrste inzulina, što je predstavljalo rizik od predoziranja ili nedovoljnog doziranja za neposredne potrebe. Taj izazov bio je dodatno otežan nedostatkom tehnologije za kućno praćenje glukoze u krvi, koja je postala dostupna tek krajem 1970-ih. Brzo je prepoznata potreba za boljom pokrivenošću između obroka i brže djelujućim inzulinom za upotrebu tijekom obroka (koncept bazalno/bolusne terapije) (Hirsch i sur., 2020). Iako su prvi analozi inzulina, nazvani dizajnerski inzulini, bili opisani još 1988. godine, rezultati Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) naglasak premještaju sa smanjenja broja injekcija inzulina dnevno na razvoj alata koji bi poboljšali kontrolu glikemije. To je dovelo do stvaranja analoga inzulina koji bolje oponašaju profil inzulina  $\beta$ -stanica, šire upotrebe poboljšanih alata za primjenu inzulina (olovke i pumpe) te proizvodnje uređaja za često mjerenje glukoze u krvi (mjerenje kapilarne glukoze u krvi i na kraju potkožni kontinuirani monitori glukoze). Prvi sintetički ljudski inzulinski analog, inzulin lispro, lansiran je 1996. godine, a uskoro su uslijedili i aspart i glulizin. Inzulin glargin 2000. je postao prvi bazalni inzulinski analog odobren za kliničku uporabu, a u narednih 15 godina, uvedeni su i detemir i degludek (Mathieu i sur., 2021). Kontinuirana evolucija i poboljšanje terapija inzulinom i sustava za isporuku značajno su unaprijedili upravljanje dijabetesom, pružajući bolju kontrolu i praktičnost za pacijente širom svijeta. S velikim brojem različitih inzulinskih lijekova koji su odobreni i prodaju se svijetu, važno je razumjeti da pojam *inzulin* predstavlja iznimno široku klasu lijekova. Očekuje se da će se kao klasa, ti lijekovi nastaviti širiti kako se razvijaju i uspješno testiraju novi agensi (Llewellyn, 2017).

Inzulin je u novije vrijeme povremeno zloupotrebljavan kao doping sredstvo zbog svog anaboličkog djelovanja, a upravo je *bodybuilding* sport uz koji se najčešće veže izvanterapijska uporaba inzulina.

## 1.2 Što je *bodybuilding* i što podrazumijeva?

*Bodybuilding* je sport usmjeren na razvoj i prikaz mišićavog tijela (Montuori i sur., 2021). Sportaši u ovoj disciplini ocjenjuju se na temelju svog mišićavog izgleda, što zahtijeva mješavinu rigoroznog treninga, precizne prehrane i discipliniranih životnih izbora. Primarni cilj



je maksimalizirati mišićnu masu i minimalizirati tjelesnu masnoću do razina koje su održive samo za vrijeme trajanja priprema za natjecanje. Za razliku od mnogih drugih sportova, gdje je atletska učinak glavni fokus, *bodybuilding* prioritizira estetiku. Uspjeh na natjecanjima ocjenjuje se isključivo prema fizičkom izgledu, uključujući veličinu mišića, definiciju te simetrično i proporcionalno povećanje mišićne mase (Parent i sur., 2022; Turner, 2018). Iako koncept *bodybuildinga* postoji stoljećima, popularnost kao natjecateljski sport stekao je u 20. stoljeću. Prvo natjecanje Mr. Olympia 1965. godine označilo je značajnu prekretnicu, što je dovelo do evolucije *bodybuildinga* u posebnu supkulturu (Mantri i sur., 2023). Iako se na jačanje mišića gleda kao na dio zdravog životnog stila, *bodybuilding* pomiče biološke granice ljudskih kapaciteta (Parent i sur., 2022).

Programi treninga za *bodybuildere* karakterizirani su razdobljima usmjerenim na različite ciljeve: povećanje mišićne mase uz minimaliziranje masnog tkiva izvan sezone i smanjenje tjelesne masti uz održavanje mišićne mase pred natjecanje (Turner, 2018). Tijekom faze *bulkinga*, *bodybuilderi* konzumiraju višak kalorija kako bi podržali rast mišića, fokusirajući se na prehranu bogatu proteinima, zdravim mastima i složenim ugljikohidratima, čime je unos energije veći od potrošnje te višak nutrijenata ostaje za izgradnju mišića. Volumen i intenzitet treninga također se povećavaju tijekom ove faze. Nakon *bulkinga*, slijedi faza *cuttinga*, kada se cilj prebacuje na smanjenje tjelesne masti uz zadržavanje čiste mišićne mase za definiraniju figuru. To uključuje smanjenje unosa kalorija i uključivanje kardio vježbi (trčanje, bicikliranje, plivanje) (<https://shorturl.at/s7d9r>). Tako je trening za *bodybuildere* podijeljen u različita razdoblja: *off-season*, *pre-contest*, *peak week* i *post-contest*. Svako razdoblje ima specifične ciljeve treninga, razine intenziteta i prehrane strategije (Montuori i sur., 2021). Tijekom *off-season* razdoblja, kao dio *bulking* perioda nakon natjecanja, *bodybuilderi* nastoje izgraditi mišićnu masu uz minimalno dobivanje masti, ali s malo obzira prema toniranju ili definiciji te s većom fleksibilnosti u dijeti. Ovo razdoblje je ključno za razvoj čvrstih temelja za nadolazeću natjecateljsku sezonu i omogućavanje tijelu da se oporavi od napornih priprema za natjecanje. U *pre-contest* razdoblju koje prethodi natjecanju, a može trajati od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci, fokus se pomiče na gubitak masti uz održavanje mišićne mase provodeći duge periode trenirajući i provodeći posebnu dijetu s postupnim smanjenjem kalorijskog unosa, sve u cilju postizanja impresivnog estetskog izgleda na pozornici (Parent i sur., 2022; Turner, 2018). *Peak week*, neposredno prije natjecanja, uključuje fino podešavanje tijela za optimalni izgled na dan natjecanja, često uključujući ekstremne prehrane manipulacije, poput gotovo potpunog izbjegavanja konzumacije ugljikohidrata, što velikom broju natjecatelja stvara izazov. A cijelo

je to razdoblje praćeno treningom s utezima i kardio setovima. Dan-dva prije natjecanja, natjecatelji drastićno smanje unos vode, skoro u potpunosti, ili reguliraju unos natrija i/ili ugljikohidrata kako bi naglasili žilavost jer je isticanje vena vaŹan dio natjecanja (Parent i sur., 2022).

Jedan od najkontroverznijih aspekata *bodybuildinga* je upotreba sredstava za poboljšanje performansi (PED). Iako uporaba PED-ova nije jedinstvena za *bodybuilding*, ona je u ovom sportu ćešća nego u mnogim drugim (Mantri i sur., 2023). Standardna prehrambena podrška, poput prehrane bogate proteinima, pojaćava ućinke treninga s utezima, potićući hipertrofiju skeletnih mišića i povećanje ukupne mišićne snage. Kako bi pojaćali ove ućinke, sportaši ćesto zloupotrebljavaju tvari zabranjene od strane Svjetske antidopinške agencije (WADA), ukljućujući anabolićko-androgene steroide (AAS), hormon rasta (GH) i inzulinu-slićni faktor rasta-I (IGF-I) ili inzulin (Heidet i sur., 2019). VaŹno je napomenuti da se uporaba sredstava za poboljšanje performansi ne testira dosljedno na natjecanjima u *bodybuildingu* (Parent i sur., 2022). Zluporaba PED-ova moŹe dovesti do znaćajnih zdravstvenih komplikacija, a etićka razmatranja u vezi s njihovom uporabom i dalje su tema rasprave.

## 2 OBRAZLOŽENJE TEME

Inzulin je hormon normalno prisutan u ljudskom tijelu odgovoran za metabolizam ugljikohidrata. Njegov nedostatak predstavlja veliki zdravstveni problem koji je do prije 100 godina značio sigurnu smrt. Danas milijuni ljudi diljem svijeta svakodnevno primaju inzulinsku terapiju kao rezultat dijagnosticiranog dijabetesa. S obzirom na to da su danas građa i mehanizam djelovanja inzulina općepoznati, jedne od najvećih farmaceutskih tvrtki svoju slavu duguju upravo svojim počecima koji se temelje na proizvodnji inzulina za globalne potrebe.

Iako su osnove inzulinske supkutane terapije već ustaljene, to ne znači da je razvoj inzulina kao lijeka stao. Svakodnevno se radi na nadogradnji već postojećih inzulinskih analoga, pojednostavljenju primjene, ali i pronalaženju alternativa supkutanoj injekciji koja većini pacijenata predstavlja najveći nedostatak i izvor neugodnosti. Dok je budućnost ovog lijeka svijetla, sadašnjost je djelomično zamračena zlouporabom inzulina kao doping sredstva zbog svojih poznatih anaboličkih svojstava. Njegova uporaba u kombinaciji s drugim sredstvima za poboljšanje performansa u *bodybuildingu* je sve češća, bez obzira na opasne, pa čak i smrtonosne, nuspojave.

Upravo bi farmaceuti kao najdostupniji zdravstveni djelatnici trebali biti svjesni ovog problema te potrebe savjetovanja pacijenata kako bi im se osigurala sigurna primjena inzulina u medicinske svrhe, a prepoznala i spriječila zlouporaba inzulina, odnosno njegova neracionalna primjena izvan medicinskih indikacija.

Cilj ovog rada je napraviti presjek saznanja o inzulinu i terapiji inzulinom kroz prošlost, s pogledom u budućnost. Srž rada predstavlja usporedba uporabe i zlouporabe inzulina. Za približavanje problematike i uzroka same zlouporabe, provedena je i anketa kojoj je cilj bio ispitati kolika je učestalost uporabe inzulina u nemedicinske svrhe među *bodybuilderima* u Hrvatskoj te bolje razumjeti razloge takve uporabe i svijest o djelovanju i mogućim nuspojavama. S obzirom na to da inzulin predstavlja doživotnu terapiju za većinu dijabetičara, postavljeno je i pitanje kako bi ta terapija mogla izgledati u narednih 100 godina te kakve nas promjene čekaju u samom sastavu inzulinskih formulacija, ali i načinu primjene.

### 3 MATERIJALI I METODE

Za izradu ovog preglednog diplomskog rada detaljno je proučena znanstvena i stručna literatura iz područja medicine i farmacije objavljena 2014. – 2024. pretraživana u sljedećim bazama podataka:

- PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>),
- ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>),
- Google Scholar (<https://scholar.google.com/>).

Pregledavane su i druge mrežne stranice sa srodnom tematikom, poput stranica namijenjenih *bodybuilderima*, WADA službene stranice i stranice Agencije za lijekove i medicinske proizvode (HALMED). Selekcija publikacija učinjena je prema sljedećim ključnim riječima i njihovim kombinacijama: *insulin, diabetes mellitus, bodybuilding, misuse, abuse, sport, doping*. Korišteni su i stručni udžbenici iz područja farmakologije.

Za potrebe aktualizacije teme, provedena je i anonimna anketa pomoću *Google Docs* alata (primjer ankete čini prilog ovog rada).

## 4 REZULTATI

### 4.1 Inzulin

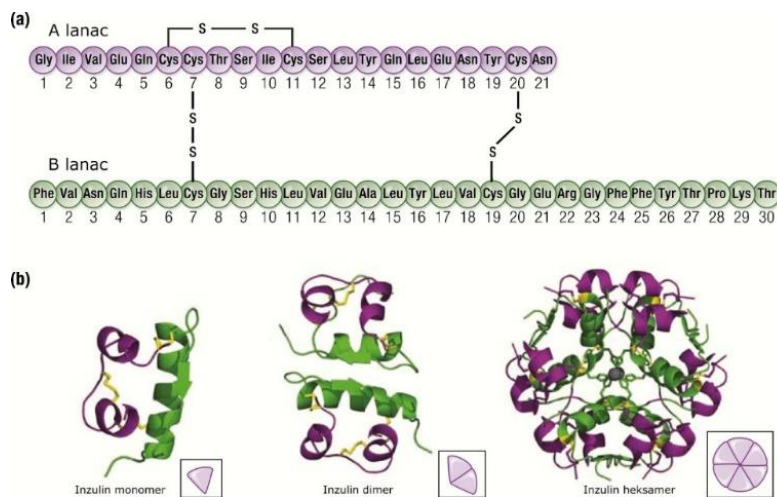
#### 4.1.1 Struktura i biosinteza

Inzulin je mali protein molekularne mase 5808 koji se sastoji od 51 aminokiseline raspoređene u dva lanca: A, kojeg čini 21 aminokiselina, i B, kojeg čini 30 aminokiselina (Katzung i Vanderah, 2020). Dva inzulinska lanca međusobno su povezana dvjema disulfidnim vezama u dimer (veze između Cys<sup>A7</sup> i Cys<sup>B7</sup> te Cys<sup>A20</sup> i Cys<sup>B19</sup>), uz dodatnu intralančanu disulfidnu vezu koja povezuje cisteinske ostatke samog A lanca (Cys<sup>A6</sup> i Cys<sup>A11</sup>) (Hirsch i sur., 2020) (Slika 1). Tri navedene disulfidne veze imaju značajnu ulogu u održavanju strukture i stabilnosti inzulinske molekule te sposobnosti hormona da se veže na inzulinske receptore. No, sustavne studije mutacija koje dovode do delecije disulfidnih veza, predlažu da ipak najznačajniju ulogu u održavanju bioloških svojstava inzulina ima interlančana veza između cisteina A20 i B19. S obzirom na utvrđenu važnost ovih veza za stabilnost molekule, sljedeći je zaključak bio da bi uvođenje dodatnog disulfidnog mosta još povećalo stabilnost. To je i potvrđeno ispitivanjem inzulinskog derivata koji je, uz standardne tri veze, imao i vezu između Ile<sup>A10</sup> te Gln<sup>B4</sup>. Taj se derivat pokazao aktivnijim od humanog inzulina uz bolju termodinamičku stabilnost te otpornost na stvaranje linearnih nakupine fibrila (Mao i sur., 2019).

Gušterača je žlijezda koja, uz egzokrinu ulogu otpuštanja probavnih enzima, ima i endokrino djelovanje za koje su zaslužni Langerhansovi otočići, njih 1 – 2 milijuna. Otočići su građeni od više vrsta stanica:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ , F i  $\epsilon$  (predstavljaju manje od 1 % svih stanica otočića). Oko 35 % svih stanica otočića čine  $\alpha$  stanice koje otpuštaju glukagon, dok  $\beta$  stanice, odgovorne za sintezu i otpuštanje inzulina te amilina, čine čak 55 %. Nešto manje od 15 % zajedno čine  $\delta$  i F stanice, zaslužne za sekreciju somatostatina i pankreasnog polipeptida. Stanice Langerhansovih otočića smještene su oko kapilara i u njih otpuštaju svoje hormone (Vaidya i sur., 2023; Ghorbani i Hashtrudi, 2016).

Samo je jedan gen za humani inzulin, *INS*, i dio je kromosoma 11 (Tokarz i sur., 2018). Sinteza inzulina započinje transkripcijom mRNA iz *INS* gena i translacijom do preproinzulinskog peptida, jednolančane molekule od 110 aminokiselinskih ostataka koja se može podijeliti, počevši od N-kraja, na signalni peptid (SP, 24 ak), B lanac (30 ak), C peptid (35 ak) i A lanac (21 ak). Preproinzulin se zatim veže na membranu hrapavog endoplazmatskog retikuluma (ER)

te prelazi na luminalnu stranu. Tijekom navedenog procesa, dolazi do proteolitičkog cijepanja SP-a te nastanka proinzulina koji se sada sastoji od B, C i A lanca. Oksidirajući uvjeti unutar samog ER-a uzrok su nastanka triju disulfidnih veza i formiranja 3D strukture proinzulina. Proinzulin napušta ER u obliku nezrelih sekretornih vezikula te dopijeva do Golgijevog tijela gdje dolazi do formiranja dimera i zatim heksamera povezanih cinkovim ionom ( $Zn^{2+}$ ), sve do konačne hidrolize pomoću prohormon konvertaze PC1/3 i PC2 u inzulin, kidanjem C-peptida i njegovim uklanjanjem djelovanjem karboksipeptidaze E. Kao odgovor na inzulinske sekretagoge, inzulin se otpušta zajedno s C-peptidom u ekvamolarnim jedinicama. Otpušta se i mala količina neobrađenog ili djelomično hidroliziranog proinzulina. Dok proinzulin pokazuje slabo hipoglikemijsko djelovanje, C-peptid nema poznatu fiziološku ulogu (Katzung i Vanderah, 2020). Cijeli proces sinteze inzulina traje manje od 2 sata uz veliku učinkovitost, jer svega 1 – 2 % proteina ostane u obliku proinzulina (Tokarz i sur., 2018; Mao i sur., 2019). Zrele granule unutar  $\beta$ -stanica gušterače na kraju svih koraka biosinteze sadrže inzulin u obliku heksamernih kristala koji se sastoje od šest monomera proteina povezanih u tri dimera koji su zbog prisutnosti  $Zn^{2+}$  oblikovali heksamere, a cijela gušterača sadrži 8 mg inzulina. Kada se inzulinski heksameri otpuštaju u krv, dolazi do razrjeđenja koje dovodi do otpuštanja  $Zn^{2+}$  te raspadanja heksamera u monomere – aktivni oblik inzulina (Hirsch i sur., 2020; Katzung i Vanderah, 2020).



Slika 1. Struktura humanog inzulina (a) aminokiselinski slijed (b) 3D struktura inzulinskog monomera (A lanac je ljubičast; B lanac zelen), inzulinskog dimera i inzulinskog heksamera (građen od 3 dimera i 2  $Zn^{2+}$ ). (preuzeto i prilagođeno prema Hirsch i sur., (2020) uz dopuštenje izdavača)

Razina glukoze u krvi kontrolira procese biosinteze i sekrecije inzulina: koncentracije veće od 5 mmol/L potiču sekreciju, dok fluktuacije 2 - 4 mmol/L iniciraju sintezu. Ranije se smatralo

da inzulin stvaraju samo  $\beta$ -stanice gušterače, no male koncentracije hormona se mogu naći i u nekim neuronima središnjeg živčanog sustava (Rahman i sur., 2021).

#### 4.1.2 Distribucija inzulina

Inzulin se iz  $\beta$ -stanica gušterače otpušta različitom brzinom – za bazalne potrebe sekrecija je puno sporija nego kada je potaknuta stimulansima, ponajviše glukozom. Stimulirajuću ulogu imaju i drugi šećeri (npr. manoza), aminokiseline (značajnije glukogene), glukagonu-sličan peptid-1 (GLP-1), glukagon, kolecistokinin i visoke koncentracije masnih kiselina, ali i lijekovi, kao što su oralni antidijabetici (derivati sulfonilureje, meglitinidi), te izopretenerol i acetilkolin. Inhibitori sekrecije inzulina su, prije svega, sam inzulina, ali i hormoni poput amilina, somatostatina i leptina, kronično visoke razine glukoze u krvi i niske koncentracije masnih kiselina te neki lijekovi (verapamil, klonidin, vinblastin, fenitoin i dr.) (Katzung i Vanderah, 2020).

Otpuštanje inzulina do kojeg dolazi nakon konzumacije glukoze zahtjeva unos glukoze u  $\beta$ -stanice gušterače te njezin daljnji metabolizam. Glavni transporteri glukoze na membrani  $\beta$ -stanica su GLUT1 i GLUT3 (Rahman i sur., 2021). Jednom kada se glukoza nađe u unutarstaničnom prostoru, slijedi njena fosforilacija u glukoza-6-fosfat (G6P) djelovanjem glukokinaze, kao prvi korak procesa glikolize. Piruvat, konačni produkt procesa glikolize, ulazi u mitohondrij pomoću posebnih mitohondrijskih nositelja te započinje Krebsov ciklus koji generira stvaranje NADH koji zatim potiče izlazak  $H^+$  iona iz mitohondrijskog matriksa u međumembranski prostor gdje putem respiracijskog lanca prijenosa elektrona dolazi do spontanog povratka vodikovih iona kroz ATP-sintazu (Tokarz i sur., 2018). Protonski gradijent daje slobodnu energiju za otpuštanje ATP-a nastalog iz ADP-a što povećava ATP/ADP omjer i dovodi do zatvaranja o ATP-u ovisnih  $K^+$  kanala. Tako generirana depolarizacija membrane  $\beta$ -stanice otvara o naponu ovisne  $Na^+$  i  $Ca^{2+}$  kanale čime se povećava unutarstanična razina  $Ca^{2+}$ , okidača za fuziju inzulinskih granula s plazmatskom membranom. Sve  $\beta$ -stanice Langerhansovih otočića međusobno komuniciraju i koordiniraju odgovore na  $Ca^{2+}$  signale kako bi se inzulin otpuštao u ritmičkim oscilacijama (Tokarz i sur., 2018). S vremenom, aktiviraju se  $Ca^{2+}$  pumpe na ER koje smanjuju razine  $Ca^{2+}$  te se ranije stvoreni ATP iskoristi, otvaraju se  $K^+$  kanali kroz kojih  $K^+$  prolazi niz svoj koncentracijski gradijent van te je otpuštanje inzulina minimalno (Katzung i Vanderah, 2020).

Inzulin, otpušten iz  $\beta$ -stanica, izravno ulazi u intersticijski prostor, koji je obavijen fenestriranom endotelnom vaskulaturom, olakšavajući njegov ulazak u portalnu cirkulaciju i izravan transport do jetre. Više od polovice inzulina gubi se kao posljedica metabolizma prvog prolaza, stoga jetra dobiva veće koncentracije inzulina od ostalih tkiva koja reagiraju na inzulin. Portalna vena isporučuje inzulin u jetru u pulsovima, otprilike svakih 5 minuta, s amplitudom pulsova 0,5 – 1 nmol/L natašte koja raste do 5 nmol/L nakon jela, značajno utječući na djelovanje i klirens inzulina u jetri. Ovaj proces je vitalan za regulaciju volumena inzulina koji dolazi do perifernih tkiva. Portalna cirkulacija dostavlja inzulin u kapilare sinusoida koje zbog svoje građe omogućavaju izmjenu sadržaja iz krvi i okolnih hepatocita, koji imaju glavnu ulogu u klirensu inzulina (Tokarz i sur., 2018). Degradacija inzulina počinje već na razini membrane, nakon vezanja na IR, pod djelovanjem izvanstaničnog enzima za razgradnju inzulina (engl., *insulin degrading enzyme*, IDE). Nakon internalizacije, inzulin se razgrađuje pomoću dodatnih IDE unutar endosoma koji se s vremenom acidificiraju te se inzulini koji su izbjegli djelovanje IDE odvajaju od IR-a. Konačno, u lizosomima se dovršava proces razgradnje svih produkata ranijih procesa i intaktne molekule inzulina. Inzulin koji se ne metabolizira u jetri zatim se prenosi jetrenom venom u vensku cirkulaciju, naposljetku dopijeva u srce te nastavlja put kroz arterijsku cirkulaciju u ostatak tijela do ciljnih tkiva (Tokarz i sur., 2018).

Putujući duž arterijskog stabla, inzulin ponovno dolazi do jetre u kojoj provodi zadane metaboličke radnje skladištenja glukoze u obliku glikogena, ali se djelomično i gubi metabolizmom drugog prolaza (Rahman i sur., 2021; Tokarz i sur., 2018). Inzulin arterijskom cirkulacijom stiže i do drugih ciljnih tkiva uključujući skeletne mišiće, masno tkivo i mozak. U tim tkivima inzulin olakšava unos glukoze, smanjuje koncentraciju glukoze u krvi i posreduje u različitim metaboličkim putovima. Središnji živčani sustav, za koji se nekada smatralo da je neosjetljiv na inzulin, vrlo je osjetljiv na inzulin. Koncentracija inzulina u cerebrospinalnom likvoru iznosi 1/3 one u krvi, a hormon se veže za svoje receptore na neuronima i glija stanicama (Tokarz i sur., 2018).

Poluživot inzulina u cirkulaciji iznosi otprilike 5 - 8 minuta, pri čemu hormon postaje nemjerljiv 30 minuta nakon otpuštanja (Yaribeygi i sur., 2019; Tokarz i sur., 2018). Jetra i bubrezi najvažniji su u uklanjanju inzulina iz cirkulacije. Jetra uklanja oko 60 % zahvaljujući njezinom strateškom položaju na kraju krvnog toka portalne vene, što rezultira značajnim smanjenjem koncentracije inzulina u sistemskoj cirkulaciji u usporedbi s portalnom cirkulacijom. Bubrezi imaju ulogu razgradnje i eliminacije svog inzulina preostalog u cirkulaciji nakon iskorištenja u



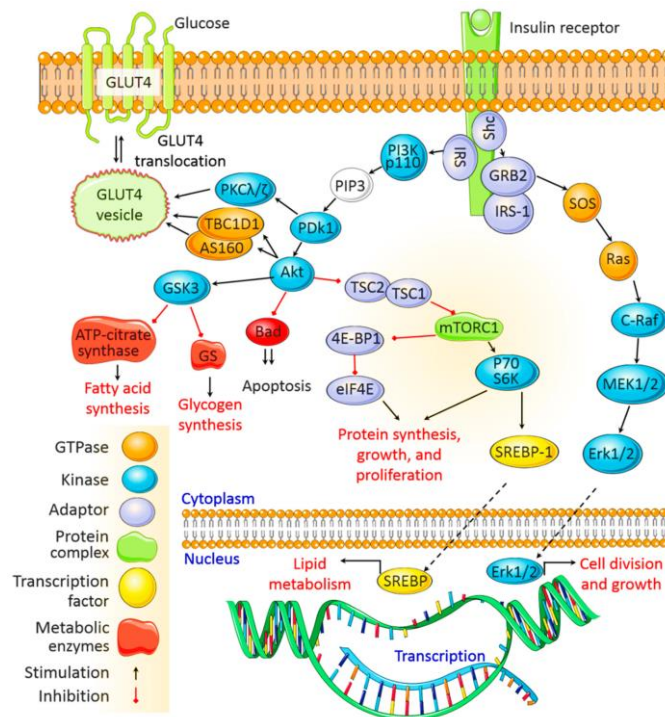
ciljnim tkivima, što iznosi 35 – 40 % endogenog hormona (Katzung i Vanderah, 2020; Tokarz i sur., 2018).

#### 4.1.3 Receptori za inzulin

Inzulin igra ključnu ulogu u funkciji stanica i metabolizmu nakon izlučivanja iz  $\beta$ -stanica gušterače. Veže se na inzulinske receptore (IR) koji su prisutni na staničnim membranama gotovo svake stanice tijela (Rahman i sur., 2021; Benni i Patil, 2016). Ovi receptori su rezultat ekspresije gena *INSR* smještenog na ljudskom kromosomu 19, protežući se na 150 kb i sadrži 22 egzona. Sinteza IR započinje formiranjem jednolančanog proreceptora koji se glikozilira te dimerizira stvaranjem disulfidnih veza. Daljnjim cijepanjem nastaje tetramer s dvije  $\alpha$ -podjedinice i dvije  $\beta$ -podjedinice -  $\alpha_2\beta_2$  (White i Kahn, 2021).  $\alpha$ -podjedinice, koje se nalaze izvan stanice, odgovorne su za vezanje inzulina, dok  $\beta$ -podjedinice, koje prolaze kroz staničnu membranu, posjeduju tirozin-kinaznu aktivnost bitnu za prijenos signala (Benni i Patil, 2016). Nakon vezanja inzulina,  $\alpha$ -podjedinica izaziva konformacijsku promjenu  $\beta$ -podjedinica što uzrokuje približavanje katalitičkih mjesta te početak signalne kaskade (Katzung i Vanderah, 2020; Kolb i sur., 2020). Smanjenje udaljenosti između  $\beta$ -podjedinica omogućuje unakrsnu fosforilaciju tirozina i aktivaciju domene tirozinske kinaze, što dovodi i do fosforilacije različitih citoplazmatskih proteina, uključujući supstrate inzulinskog receptora (IRS) i proteine koji sadrže Src homologne domene (SHC) (Kolb i sur., 2020). Tako se aktiviraju dvije glavne signalne kaskade: put fosfatidilinozitol-3-kinaza (PI3K)/protein kinaze B (Akt) i put mitogenom-aktivirane protein kinaze (MAPK), bitne za posredovanje metaboličkih i mitogenih učinaka inzulina (Rahman i sur., 2021).

PI3K/Akt put, ključan za regulaciju staničnih procesa potaknutih inzulinom, počinje fosforilacijom tirozinskih ostataka IRS. Postoje četiri homologna IRS proteina, od kojih su IRS1 i IRS2 prisutni po cijelom organizmu dok IRS4, pokazuje veću ekspresiju u određenim tkivima, npr. timus, mozak i bubrezi. IRS3 je prisutan uglavnom u glodavcima (White i Kahn, 2021). Ovaj protein nakon svoje fosforilacije veže i aktivira druge kinaze, najznačajnije – PI3K. PI3K sadrži katalitičke i regulatorne podjedinice. Sve regulatorne podjedinice sadrže SHC domene koje vežu motive IRS proteina (White i Kahn, 2021). To vezanje je okidač za aktivaciju katalitičkih podjedinica koje kataliziraju konverziju fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata (PIP2) u fosfatidilinozitol-(3,4,5)-trifosfata (PIP3). PIP3 je snažan induktor aktivacije brojnih protein kinaza, aktivira 3-fosfoinozimid-ovisnu protein kinazu-1 (PDK1) te SIN1 (MAPKAP1). PDK1

fosforilira Akt na Thr<sup>308</sup>, dok je SIN1 esencijalna za aktivaciju mTORC2, što omogućava fosforilaciju i aktivaciju Akt kinaze na Ser<sup>473</sup> (Yaribeygi i sur., 2019). Fosforilacija Akt rezultira različitim staničnim odgovorima, uključujući unos glukoze promovirajući translokaciju GLUT4, transportera glukoze, iz unutarstaničnih skladišta na staničnu membranu u mišićnim i masnim stanicama. Jednom kad se GLUT4 nađe na periferiji stanice, inzulinski signali potiču daljnju fuziju vezikula koje prenose GLUT4 s membranom te ovakvo stanje traje sve dok je inzulin prisutan. GLUT4 ima vrlo dug poluživot (oko 40 h), što omogućava mnogobrojne runde endocitoze i ponovne translokacije na membranu (Tokarz i sur., 2018). Akt potiče i sintezu glikogena inhibirajući kinazu glikogen-sintaze (aktivan oblik inhibira sintezu glikogena) te sintezu proteina, naglašavajući anaboličke funkcije inzulina uz smanjenje sinteze glukoze u jetri i autofagije, povećanje diferencijacije adipocita te inhibicijom IGFBP1 ekspresije povećava biodostupnost cirkulirajućeg IGF-1 (Rahman i sur., 2021; White i Kahn, 2021; Yaribeygi i sur., 2019). Zanimljivo je da djelovanje inzulina nije obvezno za unos glukoze u određenim tkivima, poput mozga i jetre, koji posjeduju transportere glukoze neovisne o inzulinu (Petrosino, 2019).



Slika 2. Klasični inzulinski signalni put (preuzeto iz Rahman i sur., 2021 uz dopuštenje izdavača)

IRS se alternativno može vezati za protein vezan za receptor faktora rasta 2 (Grb2), što dovodi do aktivacije G-proteina Ras (Katzung i Vanderah, 2020). Aktivirani Ras potiče c-Raf na fosforilaciju i aktivaciju MAPK/Erk kinaze (MEK). MEK zatim fosforilira kinazu reguliranu

izvanstaničnim signalom (ERK) koja, jednom aktivirana, ulazi u nukleus gdje promovira transkripciju gena uključenih u rast i diobu stanica (Rahman i sur., 2021).

Funkcija inzulinskih receptora modulirana je različitim čimbenicima, uključujući hormone, koji mogu smanjiti (npr. glukokortikoidi) ili povećati (hormon rasta) afinitet receptora za inzulin (Katzung i Vanderah, 2020).

#### 4.1.4 Fiziološka uloga inzulina

Normalno fiziološko izlučivanje inzulina je bazal-bolusno (Rahman i sur., 2021). Bazalno izlučivanje predstavlja kontinuirano izlučivanje (svakih 4 - 5 minuta) tijekom cijelog dana, uključujući i razdoblja između obroka te tijekom noći (Mao i sur., 2019). Postprandijalno izlučivanje je bolusno te gušterača obično reagira na obrok s vršnim razinama inzulina u serumu 50 - 80  $\mu\text{U/mL}$ , dok se bazalne razine inzulina kreću u rasponu 5 - 15  $\mu\text{U/mL}$  (Beals i sur., 2019).

Glavni učinci inzulina kao anaboličkog hormona, koji daje prednost skladištenju energije naspram njezinu korištenju, uključuju inhibiciju lipolize, glikolize, glukoneogeneze, ketogeneze i proteolize (Beals i sur., 2019). Inzulin također potiče sintezu i skladištenje glikogena, triglicerida i proteina u svojim glavnim ciljnim tkivima: jetri, masnom tkivu i mišićima te utječe na rast stanica i metaboličke funkcije (Katzung i Vanderah, 2020).

Jetra je primarni organ djelovanja inzulina koji ubrzava hepatičku uporabu glukoze, tj. potiče glikolizu, sintezu glikogena iz glukoze i njegovo skladištenje. Kako se kapacitet skladištenja glikogena u jetri ispunjava, višak glukoze usmjeren je na pretvorbu u masne kiseline i prekursorske trigliceride (Rahman i sur., 2021). Masne kiseline iz jetre izlaze u obliku lipoproteina koji se u cirkulaciji ponovno raspadaju u masne kiseline koje se koriste kao izvor energije ili skladište u adipocitima kao trigliceridi (Petrosino, 2019). Inzulin inhibirajući glukoneogenezu i glikogenolizu regulira i izlaz glukoze iz jetre (Beals i sur., 2019). Iako točan mehanizam kojim inzulin regulira funkciju jetre još nije istražen, pretpostavlja se da inzulin djeluje izravno i neizravno na jetru. Izravno, veže se za hepatičke IR te aktivira inzulinsku signalnu kaskadu, dok je neizravno djelovanje uglavnom regulirano smanjenjem sekrecije glukagona iz gušterače, inhibicijom lipolize i sveukupnim utjecajem hipotalamusa na inzulinsko signaliziranje, što sve posljedično utječe na hepatičku proizvodnju glukoze. Smatra se da je neizravno djelovanje ono koje ima većinski udio u kontroli jetrenih funkcija (Rahman

i sur., 2021). *Liver-specific InsR knockout* (LIRKO) miševi, genetski modificirani miševi kod kojih su uklonjeni inzulinski receptori specifično u jetri, pokazuju povišene vrijednosti glukoze u krvi natašte i postprandijalno te ozbiljnu hiperinzulinemiju. Hiperinzulinemija je rezultat povećanog izlučivanja inzulina zbog hiperglikemije, ali i smanjenog hepatičkog uklanjanja. Kronična hiperinzulinemija u LIRKO miševa dovodi do inzulinske rezistencije u ostalim tkivima. Pokazuju i smanjene razine slobodnih masnih kiselina i triglicerida u krvi zbog poremećenog metabolizma lipida u jetri, a na aterogenoj dijeti razvijaju dislipidemiju te u konačnici aterosklozu (White i Kahn, 2021).

Skeletni mišići predstavljaju jedno od najdinamičnijih tkiva ljudskog tijela, čineći gotovo polovicu tjelesne težine i dvije trećine tjelesnih proteina, stoga ne čudi da 70 % od ukupne tjelesne potrošnje glukoze otpada na skeletne mišiće. Povećane razine glukoze u krvi vraćaju se na osnovnu razinu inzulinom-posredovanim unosom glukoze koja se koristi za glikogenezu i skladištenje glikogena u mišićnim stanicama (Katzung i Vanderah, 2020). Na taj način, povećano je korištenje ugljikohidrata umjesto masnih kiselina ili aminokiselina, kao neposredno dostupnog izvora energije za mišićnu kontrakciju. Iako inzulin potiče unos aminokiselina u stanice i sintezu proteina pri visokim koncentracijama, glavna uloga inzulina je inhibicija proteolize, do koje dolazi pri fiziološkim koncentracijama (Beals i sur., 2019). Epidemiološka i eksperimentalna istraživanja ukazuju na to da su osobe s dijabetesom tipa 2 povezane sa smanjenom snagom i funkcijom mišića zbog povećanja razgradnje proteina i autofagije (Katzung i Vanderah, 2020). Delecija IR-a u skeletnim mišićima kod *muscle-specific InsR knockout* (MIRKO) miševa rezultira blagom pretiulošću i povišenim razinama slobodnih masnih kiselina i triglicerida u cirkulaciji, no nisu uočena povišenja glukoze i inzulina (Rahman i sur., 2021).

Adipozno tkivo je odgovorno za skladištenje lipida kao dodatni izvor energije i za razliku od ostalih tkiva, može ga se naći u svakom dijelu tijela. Adipozno tkivo je primarno neovisno o potrošnji glukoze, no i dalje je odgovorno za 10 % ukupnog tjelesnog unosa glukoze potaknutog inzulinom. Koncentracije triglicerida su glavni faktor adipocita koji utječu na proizvodnju inzulina (Rahman i sur., 2021). Inzulin djeluje u masnom tkivu sprječavanjem razgradnje triglicerida u slobodne masne kiseline koje se otpuštaju u krvotok i mogu biti iskorištene kao gorivo. Adipociti mogu pretvoriti glukozu u glicerol i skladištiti slobodne masne kiseline dobivene iz lipoproteina kako bi na kraju proizveli trigliceride. Dakle, inzulin potiče skladištenje triglicerida unutar masnih stanica, čineći ih anaboličkim stanicama, iako je ta vrsta

anabolizma često gledana u negativnom svjetlu (Petrosino, 2019). Upravo su zato daljnja istraživanja molekularne osnove djelovanja inzulina u adipoznom tkivu od izrazite važnosti za farmakoterapiju pretilosti (Rahman i sur., 2021).

Mozak je dugo bio smatran neosjetljivim na inzulin, no pokazano je da inzulin može povećati unos glukoze u tkiva leđne moždine i neke regije mozga (koroidni pleksus, epifiza, hipofiza). Inzulin regulira metabolizam glukoze i energetske ravnotežu u mozgu, a također kontrolira važne fiziološke funkcije neurona i glija stanica, poput plastičnosti neurona, procesuiranja memorije, kognicije i raspoloženja (Rahman i sur., 2021; Tokarz i sur., 2018). Intranazalna terapija inzulinom rezultirala je značajnim poboljšanjem memorije kod žena, ali ne i kod muškaraca, što se može pripisati razlici u središnjem živčanom sustavu (SŽS) između spolova (Tokarz i sur., 2018). Poboljšanje je utvrđeno i u kognitivnim funkcijama nakon osam tjedana terapije što, uz činjenicu da nedostatak središnje inzulinske aktivnosti može dovesti do abnormalne hiperfosforilacije tau proteina (faktor razvoja Alzheimerove bolesti), inzulinu daje mjesto u adjuvantnoj terapiji Alzheimerove bolesti (Rahman i sur., 2021; Tokarz i sur., 2018). Inzulin regulira i apetit smanjenjem ekspresije oreksogenih neuropeptida Y i AGRP (engl. *agouti-related peptide*) te povećanjem ekspresije anoreksogena pro-opiomelanokortina (POMC) (Tokarz i sur., 2018). Utvrđeno je da 160 i.j. inzulina dano intranazalnim putem smanjuje unos hrane u zdravih muškaraca. Iako se isto djelovanje nije utvrdilo za žene, inzulin bi i u ovom smislu mogao postati dio budućih terapijskih rješenja u liječenju pretilosti (Rahman i sur., 2021). Središnje djelovanje inzulina izaziva i odgovore perifernih tkiva - doprinosi supresiji glukoneogeneze u jetri te termoregulaciji aktivacijom mehanizama oslobađanja topline u smeđem masnom tkivu (Tokarz i sur., 2018).

Inzulin u sistemske cirkulaciji ostvaruje hemodinamičke učinke na endotelne stanice krvnih žila potičući protok krvi, čime osigurava dostavu inzulina u periferna tkiva. U velikim krvnim žilama inzulin djeluje na inzulinske receptore endotelnih stanica, što započinje kaskadu PI3K/Akt puta koji dovodi do aktivacije endotelne NO sintaze koja katalizira pretvorbu L-arginina u NO, snažnog vazodilatatora koji opušta glatke mišiće krvnih žila povećanjem proizvodnje cikličkog gvanozin monofosfata (cGMP) i s time povezanim smanjenjem intracelularne koncentracije  $Ca^{2+}$ . Tako, unutar nekoliko minuta, inzulin stimulira dilataciju arterija i arteriola, što zauzvrat opskrbljuje prethodno kolabirane kapilare (čiji je endotel glavna barijera za dostavu inzulina) krvlju, promičući dostavu inzulina tkivima (Tokarz i sur., 2018).

Inzulin smanjuje izlučivanje glukagona iz  $\alpha$ -stanica gušterače, snažnog induktora hiperglikemije (Yaribeygi i sur., 2019). S obzirom na to da su  $\beta$ -stanice kao glavni izvor inzulina konstantno izložene visokim koncentracijama inzulina, smatralo se da nisu osjetljive na inzulini ili da je odgovor koji daju, samo rezultat negativne povratne sprege da se smanji izlučivanje dodatnog inzulina. Povišene razine  $Ca^{2+}$ , rezultat odgovora na povišene razine glukoze, aktiviraju kalcineurin, fosfatazu odgovornu za defosforilizaciju nuklearnog faktora aktiviranih T-stanica (engl. *nuclear factor of activated T-cells*, NFAT). NFAT tako ima omogućenu translokaciju u jezgru, gdje kao transkripcijski faktor potiče ekspresiju IRS2. Ekspresija tog proteina zaslužna je za održavanje aktivnosti PDX1 (engl. *pancreatic and duodenal homeobox 1*), drugog transkripcijskog faktora odgovornog za rast, razvoj i funkciju  $\beta$ -stanica. Upravo bi djelatne tvari koje utječu na ekspresiju IRS2 mogle biti budućnost terapije odumiranja  $\beta$ -stanica zbog inzulinske rezistencije i dijabetesa tipa 2 (White i Kahn, 2021).

Inzulin sudjeluje u raznim metaboličkim procesima u bubrezima, pogotovo važnim za metabolizam glukoze. Delecija gena za IR u bubrežnim epitelnim stanicama u miševima dovodi do izmijenjenog sistemskog i bubrežnog metabolizma glukoze. Smanjena ekspresija IR-a uočena je i u mišjim modelima koji su bili na dijeti bogatoj mastima, u štakora s dijabetesom tipa 1 te u ljudskih ispitanika s dijagnosticiranim dijabetesom tipa 2. Angiotenzin-II (Ang-II), ključni peptid renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS), koji je uključen u povišenje krvnog tlaka i razvoj renalnih bolesti, dodatno ometa aktivaciju PI3K potaknutu inzulinskim signaliziranjem, što dovodi do inzulinske rezistencije. Hiperglikemija, do koje posljedično dolazi, odgovorna je za razvoj dijabetičke bolesti bubrega. Upravo kontrola hiperglikemije inzulinskom terapijom može usporiti ili preokrenuti progresiju bubrežnih bolesti (Rahman i sur., 2021).

Inzulin također potiče razvoj kostiju, pomaže formiranju kostiju i smanjuje osteoporozu. Eksperimenti na miševima pokazali su da osteoblasti i osteoklasti na svojoj površini izražavaju inzulinske receptore (IR) te inzulini na taj način regulira razvoj osteoblasta i resorpciju kosti od strane osteoklasta. Inzulin kao anabolik potiče proliferaciju, preživljavanje i diferencijaciju osteoblasta te sintezu kolagena, dok istovremeno inhibira aktivnost osteoklasta. Životinjski modeli s deficitom inzulina pokazali su smanjenje mineraliziranih i osteoidnih površina kao posljedicu izmjena u procesu apozicije kosti i aktivnosti osteoblasta, a pacijentima s dijabetesom tipa 1 uočena je niska mineralna gustoća kostiju s povećanim rizikom od lomova (Rahman i sur., 2021).

Iako sama veza inzulina i folikula kose nije u potpunosti jasna, hiperglikemijska stanja uzrokuju kronične padove u opskrbi kisikom i hranjivim tvarima koji mogu dovesti do oštećenja folikula i time promijeniti normalni rast kose (stanjivanje, krhkost, rijetkost kose i smanjenje rasta). Pojedini kožni uvjeti, poput akrohordona (viseći madež), akni i psorijaze, povezani su s djelovanjem inzulina. Akne su simptom mnogih bolesti povezanih s inzulinskom rezistencijom, dok su pojedinci s akrohodonima pokazali pogoršanje u metabolizmu ugljikohidrata u odnosu na zdrave osobe, a oboljeli od psorijaze pokazuju nereguliranu inzulinsku osjetljivost (Rahman i sur., 2021).

#### 4.1.5 Patofiziološka stanja povezana s inzulinom

Inzulin igra ključnu ulogu u održavanju homeostaze glukoze, stoga i niske (hipoinzulinemija) i visoke razine inzulina (hiperinzulinemija) mogu biti štetne za funkcije organizma. Hipoinzulinemija uzrokuje dijabetes ovisan o inzulinu što onemogućava stanicama da koriste glukozu kao izvor energije te izaziva hiperglikemiju. S druge strane, hiperinzulinemija doprinosi razvoju stanja poput inzulinske rezistencije i dijabetesa tipa 2 (Kolb i sur., 2020).

Nedostatak inzulina dovodi do visokih koncentracija glukoze u krvi - hiperglikemije. Produžena hiperglikemija rezultira dijabetes melitusom (DM) i može uzrokovati komplikacije poput oštećenja živčanog sustava, očiju i bubrega. Disfunkcija Langerhansovih otočića te posljedična hipoinzulinemija, smanjena upotreba glukoze te inzulinska rezistencija ključni su faktori u nastanku i progresiji hiperglikemije i dijabetesa. Disfunkcije gena za ključne enzime metabolizma glukoze, također dovode do smanjenja otpuštanja inzulina te intoleracije na glukozu. Do bazalne hiperglikemije dolazi zbog smanjenja omjera glukagon/inzulin što rezultira pojačanom glukoneogenezom u jetri, dok su razlozi postprandijalne hiperglikemije smanjenje koncentracije inzulina u cirkulaciji ili smanjenje iskorištavanja glukoze u perifernim tkivima. Učestalost hiperglikemije zadnjih godina raste podjednako među pripadnicima oba spola zbog smanjene fizičke aktivnosti te povećane pretilosti (Yaribeygi i sur., 2019).

Šećerna bolest klasificira se u tri glavna tipa: dijabetes tipa 1 (DM1) čini 5 – 10 % slučajeva i posljedica je autoimunog uništenja  $\beta$ -stanica gušterače. 90-95 % slučajeva predstavlja dijabetes tipa 2 (DM2), koji je uzrokovan gubitkom i disfunkcijom  $\beta$ -stanica, zajedno s inzulinskom rezistencijom. Poseban tip DM-a je gestacijski dijabetes, odnosno trudnički dijabetes koji se

javlja zbog inzulinske rezistencije koja predstavlja odgovor na hormonalne promjene (Yaribeygi i sur., 2019).

Neodgovarajući ili potpuni nedostatak inzulina kod osoba s DM1, a rjeđe i kod onih s DM2, može dovesti do dijabetičke ketoacidoze (DKA). Najčešće se DKA dijagnoza veže uz pacijente kojima je nedavno dijagnosticiran DM1 ili kod pacijenata na inzulinskoj terapiji (češće kod primjene inzulinske pumpe), ukoliko je ona iznenada prekinuta, ali i kod DM2 uslijed intenzivnog fizičkog stresa, poput sepse ili pankreatitisa, te uz visoke doze steroida. Loša adherencija je glavni uzrok DKA (Katzung i Vanderah, 2020). Ovo po život opasno stanje obilježava nemogućnost stanica da koriste glukozu, što dovodi do oslanjanja na zalihe masti i otpuštanja ketona u krvotok (Rahman i sur., 2021). Simptomi uključuju mučninu, povraćanje, bolove u trbuhu, duboko sporo (Kussmaulovo) disanje, promjene mentalnog statusa (uključujući komu), povišene vrijednosti ketona i glukozu u krvi i urinu, niski pH krvi ( $< 7,3$ ) i niske razine bikarbonata (15 mmol/L). Liječenje uključuje agresivnu intravensku hidrataciju i terapiju inzulinom, uz održavanje kalija i drugih elektrolita. Hidratacija se provodi fiziološkom otopinom, dok se za nadomjestak inzulina daje humani inzulin s početnom dozom od 0,1 U/kg/h (Katzung i Vanderah, 2020).

Hiperinzulinemija, karakterizirana povišenim razinama inzulina u krvi, često je rezultat kompenzacijskog mehanizma gušterače za inzulinsku rezistenciju (Rahman i sur., 2021). Definiše se kada vrijednosti inzulina natašte prijeđu 15 mIU/ml ili 80 mIU/ml nakon unosa glukoze (Vaidya i sur., 2023). Ovo stanje povezano je s nekoliko zdravstvenih problema, uključujući DM2 i pretilost, disfunkciju endotela, hipertenziju, hipertrigliceridemiju i aterosklerozu, infarkt miokarda, Alzheimerovu bolest i skraćen životni vijek (Rahman i sur., 2021; Kolb i sur., 2020). Velik broj ranije navedenih metaboličkih poremećaja koje povezuje hiperinzulinemija, također karakterizira i povećan unos masnih kiselina prehranom. Dokazano je da zapadnjačka prehrana stimulira intestinalne enterocite na sekreciju inkretina koji povisuju o glukozu-ovisnu sekreciju inzulina, čak i kod niskih doza glukoze, te ima ključnu ulogu u razvoju hiperinzulinemije, a time i povećane izloženosti jetre inzulinu, što potiče sintezu masnih kiselina dovodeći do metaboličkog sindroma (Home i Mehta, 2021; Rahman i sur., 2021). Inzulinska rezistencija, česta značajka metaboličkih poremećaja, javlja se kada stanice ovisne o inzulinu ne reagiraju pravilno na inzulin, što kompenzatorno dovodi do hiperglikemije (Yaribeygi i sur., 2019). To je obrambeni mehanizam koji sprječava pretjerani transport glukoze iz krvi do kojeg bi došlo zbog povišenih vrijednosti inzulina u krvi (Kolb i sur., 2020). Na taj



se način održava homeostaza glukoze, ali i smanjuje oksidativni stres prouzročen pretjeranim influksom glukoze. Na inzulinsku rezistenciju utječu faktori poput dobi, težine, etničke pripadnosti, tjelesne masti, tjelesne aktivnosti, dijete, crijevne mikrobiote i lijekova (White i Kahn, 2021). Rezultat je disfunkcije receptora koja vodi do oštećene inzulinske signalne transdukcije, a ne smanjenog broja receptora za inzulini (Kolb i sur., 2020). Do disfunkcije receptora dolazi ili zbog nastanka protutijela na receptore ili zbog mutacija u *INSR* genu (bilo ekstracelularnog, bilo kinaznog dijela), a rijetko i zbog gubitka funkcije Akt (White i Kahn, 2021). Među ostalim čimbenicima su oksidativni stres, upala i mitohondrijska disfunkcija (Yaribeygi i sur., 2019). Tijekom inzulinske rezistencije, selektivno su oštećeni neki dijelovi PI3K/Akt puta, što dovodi do nedovoljne translokacije GLUT4 i deficijentne aktivacije eNOS-a, dok se anaboličke aktivnosti preko MEK/Erk i mTORC1 puta i dalje održavaju. Rezultat je neuravnotežen anabolizam koji favorizira sintezu proteina sa suprimiranom autofagijom, te prometom proteina i lipida što pogoduje starenju stanica (Kolb i sur., 2020). Kombinacija hiperinzulinemije i inzulinske rezistencije potiče hipertenziju i aterogenezu. Inzulini normalno povećava proizvodnju dušikovog oksida (NO) za vazodilataciju, ali to je potisnuto tijekom inzulinske rezistencije. Istovremeno, inzulini preko MAP kinaze povisuju endotelin-1 (ET-1), inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1), adhezijskih molekula i pro-upalnih citokina. To sve, zajedno s aktiviranim RAAS, doprinosi rigidnosti krvnih žila i povišenom vaskularnom tonusu. Povišene razine inzulina također povećavaju rizik od hipertenzije pojačavanjem renalne reapsorpcije natrija (Kolb i sur., 2020).

## 4.2 Inzulini kao lijek

### 4.2.1 Indikacije

Agencija za lijekove i medicinske proizvode Hrvatske (HALMED) kao indikaciju za uporabu inzulina navodi liječenje šećerne bolesti u odraslih, adolescenata i djece (dob varira među vrstama inzulina). (<https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/>).

Kriteriji za postavljanje dijagnoze dijabetesa su:

- Glikirani hemoglobin (HbA1c)  $\geq 6,5$  %
- GUK natašte  $\geq 7,0$  mmol/L u dva ili više mjerenja
- GUK 2 h nakon konzumacije 75 g glukoze  $\geq 11,1$  mmol/L (Kerner i Brückel, 2014).

DM1, često nazivan o inzulinu ovisan dijabetes, autoimuna je bolest u kojoj imunski sustav tijela napada stanice koje proizvode inzulini u gušterači. Osobe s ovim stanjem zahtijevaju

redovite dnevne injekcije inzulina za kontrolu razine glukoze u krvi. Osim primjene inzulina, pojedinci moraju stalno pratiti razinu glukoze u krvi i regulirati unos šećera. Za endogeni inzulin postoji povratni mehanizam koji kontrolira izlučivanje inzulina na temelju promjena razine glukoze u krvi koje osjete otočići gušterače i druga tkiva. Kada se inzulin primjenjuje egzogeno, ovaj povratni mehanizam je odsutan, što zahtijeva pažljivo mjerenje glukoze u krvi i unosa ugljikohidrata kako bi se odredilo optimalno doziranje inzulina (Hirsch i sur., 2020). Za većinu pacijenata s DM1, najmanje tri do četiri injekcije inzulina dnevno su potrebne za učinkovitu i sigurnu kontrolu glukoze. Kombinacija brzodjelujućih i dugodjelujućih inzulinskih analoga omogućava zamjenu inzulina koja je najbližnja fiziološkoj sekreciji. Novodijagnosticirani pacijenti mogu zahtijevati minimalne doze bazalnog i bolusnog inzulina jer još uvijek proizvode nešto endogenog inzulina. Za pacijente s duljim trajanjem dijabetesa, 24-satne potrebe za bazalnim inzulinom obično se temelje na dobi i tjelesnoj težini. Adolescenti bi mogli trebati čak 0,4 i.j./kg/dan, odrasli ispod 25 godina oko 0,35 i.j./kg/dan, a stariji obično trebaju oko 0,25 i.j./kg/dan. Bolus inzulina za obrok varira ovisno o dobu dana i dobi pacijenta. Adolescenti i mladi odrasli obično trebaju 1 i.j. inzulina na 10 grama ugljikohidrata, dok stariji odrasli obično trebaju oko 1 i.j. na 15 grama ugljikohidrata (Katzung i Vanderah, 2020). Kod DM2 tijelo ili ne može proizvesti dovoljno inzulina ili je proizvedeni inzulin neučinkovit u upravljanju razinom glukoze u krvi. Često se veže uz druge zdravstvene probleme koji zajedno predstavljaju metabolički sindrom (hipertenzija, hiperlipidemija, pretilost) (Ghorbani i Hashtrudi, 2016). Osnovne razlike između ova dva tipa šećerne bolesti navedena su u Tablici 1 (Kerner i Brückel, 2014).

Tablica 1. Diferencijalni dijagnostički kriteriji za DM1 i DM2

<b>Parametar</b>	<b>Dijabetes tipa 1</b>	<b>Dijabetes tipa 2</b>
<b>Dob nastanka</b>	Većinom djeca, adolescenti i mladi odrasli	Većinom srednja i starija dob
<b>Početak</b>	Akutan do subakutan	Obično postupan
<b>Simptomi</b>	Česta poliurija, polidipsija, gubitak težine, umor	Obično bez simptoma
<b>Tjelesna težina</b>	Obično normalna	Obično prekomjerna tjelesna težina
<b>Skлонost ketozi</b>	Izražena	Nema ili je blaga

<b>Izlučivanje inzulina</b>	Smanjeno ili nema	Niže od normalnog do visokog, uvijek kvalitativno narušeno
<b>Inzulinska rezistencija</b>	Nema (ili je vrlo niska)	Često izražena
<b>Učestalost u obiteljskoj povijesti pacijenta</b>	Obično negativna	Obično pozitivna
<b>Pojavnost kod jednojajčanih blizanaca</b>	30 – 50 %	Više od 50 %
<b>Nasljednost</b>	Multifaktorijalna (poligenska)	Multifaktorijalna (najvjerojatnije poligenska, ali je moguća genetska heterogenost)
<b>Protutijela povezana s dijabetesom</b>	Otprilike 90 – 95 % na početku	Nema
<b>Odgovor na antidijabetike koji stimuliraju izlučivanje inzulina</b>	Obično nema	Obično dobar u početku
<b>Inzulinska terapija</b>	Potrebna	Obično nije potrebna dok se izlučivanje inzulina ne smanji nakon godina bolesti

Terapijski pristup DM2 varira ovisno o stanju pacijenta. U blagim slučajevima, promjene načina života, kao što su tjelovježba i gubitak težine, uvode se prije farmakoterapije (Mottram i Chester, 2018). Kada kombinacija lijekova, poput oralnih antidijabetika i/ili supkutanih injekcija agonista receptora za glukagonu-sličan peptid-1, ne uspijeva kvalitetno kontrolirati razinu glukoze, treba započeti terapiju inzulinom. Dodavanje noćnog srednje-dugotrajnog ili dugodjelujućeg inzulina postojećem režimu lijekova može poboljšati razinu glukoze natašte i osigurati adekvatnu kontrolu tijekom dana. Ako razine glukoze tijekom dana i dalje ostaju problematične, korištenje unaprijed predmiješanih inzulina prije doručka i večere može pomoći. Međutim, ako ovaj režim ne postigne odgovarajuću kontrolu ili dovodi do neprihvatljivih stopa hipoglikemije, potrebna je intenzivnija terapija. Režim bazal-bolusnog inzulina može se primijeniti kako bi se osiguralo bolje upravljanje razinom glukoze (Katzung i Vanderah, 2020).

Gestacijski dijabetes se smatra zasebnim entitetom. U ovom slučaju, intolerancija na glukozu se prvi put uočava za vrijeme trudnoće. Tijek trudnoće praćen je porastom inzulinske

rezistencije i time povezanom većom potrebom za inzulinom. Ako se rezistencija i unos inzulina na vrijeme usklade, dijabetes se može smatrati reguliranim. U suprotnom, trudnica postaje hiperglikemična (Alam i sur., 2014). Gestacijski dijabetes je dijagnosticiran u slučajevima kada GUK natašte iznosi  $\geq 5,1$  mmol/L, 60 min nakon konzumacije glukoze  $\geq 10,0$  mmol/L, tj. 120 min nakon konzumacije glukoze  $\geq 8,5$  mmol/L.

Uz gestacijski, postoje i drugi specifični tipovi dijabetesa, kao posljedice bolesti egzokrine gušterače (pankreatitis, cistična fibroza), endokrinopatije (Cushingov sindrom, akromegalija), dijabetes-induciran lijekovima (glukokortikoidi) ili infekcijama, uzrokovan genskim polimorfizmima koji utječu na funkciju  $\beta$ -stanica (MODY oblici) ili inzulinsku signalizaciju (Kerner i Brückel, 2014).

Kronične komplikacije dijabetesa mogu biti mikro- ili makrovaskularne. Mikrovaskularne su retinopatija (rezultira gubitkom vida), nefropatija (renalna disfunkcija) i neuropatija (oštećenje perifernog živčanog sustava, može biti lokalizirana ili nelokalizirana, a rezultira gubitkom osjeta, boli i trncima u ekstremitetima). Makrovaskularne komplikacije rezultiraju kardiovaskularnim tegobama – hipertenzija, ishemijske bolesti srca, srčani ili moždani udar. Mikrovaskularne komplikacije se više vežu uz DM1, dok pacijenti s DM2 imaju veći rizik razvoja makrovaskularnih komplikacija. Komplikacije dijabetesa do kojih dolazi akutno su hipoglikemija i dijabetička koma (Alam i sur., 2014; Katzung i Vanderah, 2020).

#### 4.2.2 Vrste inzulina i inzulinske terapije

Glavni cilj terapije inzulinom u dijabetičara je postizanje stroge kontrole nad vrijednostima glukoze u krvi simuliranjem bazalno-bolusne fiziološke sekrecije iz gušterače (Jacob i sur., 2018). Fiziološki inzulin čine dvije glavne komponente: bazalni i bolusni inzulin. Bazalni inzulin osigurava relativno konstantnu razinu inzulina tijekom cijelog dana, dok bolusni inzulin kontrolira porast razine inzulina nakon jela (Jarosinski i sur., 2022; Jacob i sur., 2018). Zdrava ljudska gušterača u normalnim uvjetima otpušta približno 1 jedinicu inzulina na sat (0,035 mg) da bi se održala bazalna glikemijska kontrola (Beals i sur., 2019). Postprandijalno povišenje vrijednosti glukoze u krvi značajno doprinosi vrijednostima glikoziliranog hemoglobina (HbA1C). Bolus injekcije trebaju dijabetičarima zadovoljiti približno 10 – 20 % ukupne dnevne potrebe za inzulinom tijekom svakog obroka (Jacob i sur., 2018). Jedinica inzulina se u početku definirala na temelju hipoglikemijske aktivnosti inzulina kod zečeva. Kako su se tehnologije pročišćavanja proteina razvijale i poboljšavale, tako se danas jedinica inzulina definira na

osnovi težine te predstavlja bioekvivalent od 34,7  $\mu\text{g}$  kristala inzulina (Katzung i Vanderah, 2020; Jacob i sur., 2018). Pacijenti s dijagnozom dijabetesa ovisnog o inzulinu dnevno trebaju 0,5 – 1 i.j./kg podijeljeno u više doza, od čega 50 % dolazi u obliku bazalnog inzulina, a ostatak u obliku bolusnog. Jednom kada potrebe za inzulinom prijeđu vrijednosti od 100 i.j./dnevno, potrebno je provoditi mjere smanjenja negativnog utjecaja inzulinske rezistencije, što uključuje povećanje tjelesne aktivnosti, regulaciju dnevnog unosa ugljikohidrata te individualizirane promjene u režimu doziranja inzulina (Jacob i sur., 2018).

Humani inzulin je dostupan kao regularni (R), te kao neutralna protaminska Hagedorn (NPH) inzulin formulacija, uz dodatnih šest analoga (lispro, aspart, glulizin; glargin, detemir, degludek), a razlikuju se prema brzini nastupa i trajanju djelovanja. (Katzung i Vanderah, 2020). Brzodjelujući inzulini, kao što su regularni humani inzulin te analozi lispro, aspart i glulizin, dizajnirani su da imaju brzo (početak u roku 12 - 30 min), ali kratko (3 – 5 h) djelovanje. Nasuprot tome, dugodjelujući inzulini, glargin, detemir i degludek, imaju sporiji početak (1 – 2 h) i duže trajanje djelovanja, do čak 42 h. Srednjedugodjelujući inzulini se nalaze negdje između, s početkom djelovanja unutar 30 min – 2 h te ukupnim djelovanjem do 16 h (Katzung i Vanderah, 2020). Ova podjela se temelji na vremenskom periodu potrebnom da inzulin pokaže svoju hipoglikemijsku aktivnost nakon iniciranja (Thevis, 2022). Nakon supkutane primjene, inzulin ne ulazi odmah u sistemsku cirkulaciju jer samo monomeri mogu proći kroz kapilarni zid, a inzulin je u formulacijama najčešće u heksamernom obliku kako bi se održala stabilnost molekule. Aditivi koji se dodaju radi održavanja heksamerne strukture te antibakterijskog djelovanja su cink te m-krezol i/ili fenol uz određeni pufer koji održava željeni pH. Vrijeme potrebno da se monomeri oslobode ovisi o jačini veza unutar heksamera – što su jače, potrebno je duže vremena da monomer uđe u cirkulaciju. Na farmakokinetiku inzulina, osim njegovih karakteristika, utječu i fiziološki faktori poput tjelovježbe, tjelesne temperature te osjetljivosti na inzulin (Hirsch i sur., 2020).

Većina inzulina dostupna je u koncentracijama od 100 i.j./mL (U100), ali postoje i koncentriraniji oblici poput U300 glargina, U200 degludek ili lispro inzulina te U500 regularnog humanog inzulina. Za razliku od endogenog inzulina, 60 % egzogenog inzulina uklanjaju bubrezi, dok jetra uklanja ostatak. Inzulinske šprice i igle bile su dostupne u različitim veličinama, a primjena inzulina je danas značajno olakšana inzulinskim penovima (Katzung i Vanderah, 2020).

#### 4.2.2.1 *Humani regularni inzulin*

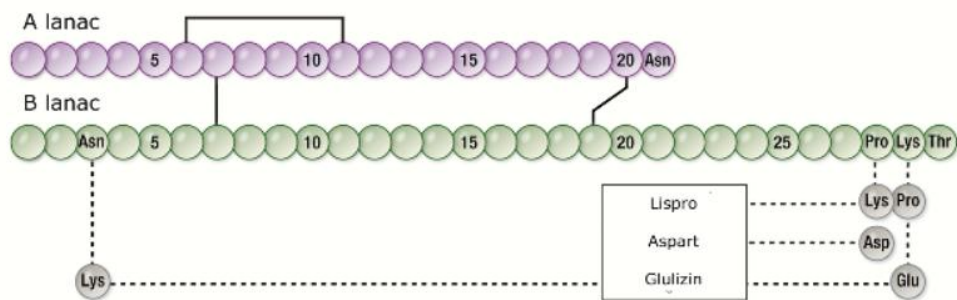
Regularni inzulin, identičan ljudskom inzulinu, je kratkodjelujući, topljivi kristal cink-inzulina. Vrijeme početka djelovanja, vršni učinak i trajanje djelovanja ovise o dozi, no kada se primjenjuju uobičajene doze (tj. 5 - 15 i.j.) mora se primijeniti 30 - 45 minuta prije obroka jer se hipoglikemijski učinak pojavljuje unutar 30 minuta nakon supkutane injekcije, dostiže vrhunac za otprilike 2 sata i traje 5 - 7 sati. Regularni inzulin obično se primjenjuje intravenskim/supkutanim putem i kompatibilan je s fiziološkom otopinom (0,9% NaCl), dekstrozom (5 % ili 10 %) i 50 mmol/L (40 mEq/L) kalij-klorida. Za osobe s inzulinskom rezistencijom koje bi inače zahtijevale velike količine inzulinske otopine, dostupan je U500 pripravak ljudskog regularnog inzulina u bočici i u jednokratnoj olovci. Kada je potreban intravenski inzulin, koristi se regularni inzulin, npr. posebno je važan u liječenju dijabetičke ketoacidoze i tijekom perioperativnog upravljanja glukozom. Glavna ograničenja regularnog inzulina su postprandijalna hipoglikemija i kasna postprandijalna hipoglikemija. Regularni inzulin smije se miješati samo s NPH inzulinom u istoj štrcaljki i nikada se ne smije koristiti u kontinuiranim infuzijskim inzulinskim pumpama (Katzung i Vanderah, 2020; Jacob i sur., 2018).

#### 4.2.2.2 *Brzodjelujući inzulin*

Brzodjelujući inzulini uključuju tri inzulinska analoga: lispro, aspart i glulizin koji se razlikuju od humanog inzulina po jednoj ili dvije aminokiseline. Ovi inzulini su dizajnirani da oponašaju prirodni odgovor tijela na inzulin bliže nego regularni humani inzulin, nudeći značajne prednosti u upravljanju razinama glukoze u krvi. Kada se primijene supkutano, brzo se disociraju u monomere i apsorbiraju u cirkulaciju zbog svoje niske sklonosti za stvaranje agregata. Brzodjelujući inzulini dosežu vršne serumske vrijednosti unutar 1 - 3 sata i imaju kraće vrijeme djelovanja u usporedbi s humanim inzulinom (Jacob i sur., 2018). Takvo brzo vrijeme početka djelovanja unutar 5 - 30 minuta i aktivnim trajanjem 2 - 8 sati, čini ih pogodnima za primjenu uz obroke (Preiato, 2021). No, što je kraće vrijeme djelovanja brzodjelujućih inzulina, time je bitnija ispravnost doze bazalnih inzulina (Hirsch i sur., 2020). Promjene aminokiseline u ovim analogima ne ometaju njihovo vezanje za inzulinski receptor, poluvrijeme eliminacije ili imunogenost, koji su slični onima kod regularnog humanog inzulina (Katzung i Vanderah, 2020). Također, moguća je primjena više korekcijskih bolusa zaredom bez rizika posljedične hipoglikemije (Mathieu i sur., 2021). Klinička ispitivanja pokazala su da su optimalna vremena za preprandijalnu primjenu brzodjelujućih inzulinskih analoga ista kao i

za regularni humani inzulin, 15, odnosno 45 minuta prije obroka. Ova fleksibilnost vremena omogućuje pacijentima da primijene brzodjelujuće inzuline neposredno prije jela. Važno je da pacijenti unesu dovoljnu količinu ugljikohidrata na početku obroka kako bi izbjegli hipoglikemiju tijekom obroka. Brzodjelujući inzulinski analozi također pokazuju najnižu varijabilnost u apsorpciji, približno 5 % varijacije u usporedbi s 25 % kod regularnog inzulina. Još jedna poželjna značajka brzodjelujućih inzulinskih analoga je njihovo dosljedno trajanje djelovanja, koje je oko 4 sata za većinu uobičajenih doza, u usporedbi s regularnim inzulinom čije je trajanje djelovanja značajno produženo pri većim dozama (Katzung i Vanderah, 2020).

Razvoj brzodjelujućih inzulinskih analoga započeo je odobrenjem inzulina lispro (Humalog od Eli Lilly & Co.) od strane FDA 1996. godine, a zatim su slijedili inzulin aspart (NovoLog ili NovoRapid od Novo Nordisk) 2000. godine i inzulin glulizin (Apidra od Sanofi) 2004. godine. Inzulin lispro je inzulinski analog u kojem je prolin na poziciji B28 zamijenjen s lizinom na B29 (Katzung i Vanderah, 2020). Unatoč stabilizaciji u heksamernom kompleksu pomoću fenola i cinka, inzulin lispro zadržava svoje brzo djelovanje i smatra se ekvipotentnim humanom topljivom inzulinu na osnovi jedinica, ali s bržim djelovanjem (Llewellyn, 2017; Beals i sur., 2019). Kod inzulina asparta jedna supstitucija prolina s asparaginskom kiselinom na poziciji B28 razlikuje ga od humanog inzulina (Katzung i Vanderah, 2020; Beals i sur., 2019). Inzulin glulizin se razlikuje od humanog inzulina po dvije supstitucije: asparagin → lizin na poziciji B3 i lizin → glutaminska kiselina na poziciji B29 (Slika 3). Ove supstitucije povećavaju otpornost na kemijsku i fizičku degradaciju s povećanim neto negativnim nabojem pri neutralnom pH (Jarosinski i sur., 2022). Molekula glulizina može biti formulirana u monomernom/dimernom stanju, čime se eliminira kašnjenje povezano s disocijacijom heksamera (Hirsch i sur., 2020). Može se miješati samo s NPH inzulinom pri čemu se takva mješavina mora primijeniti odmah nakon miješanja te se ne smije davati intravenozno (Jacob i sur., 2018). Za razliku od inzulina lispro i inzulina aspart, inzulin glulizin koristi polisorbitat 20 umjesto cinka kao ekscipijent za stabilizaciju, kako bi se postigao nešto brži početak djelovanja jer uklanjanje cinka dovodi do poremećaja u heksameru. Loša strana polisorbata 20 je povezanost s češćim začepjenjem katetera za kontinuiranu supkutanu infuziju inzulina (Mathieu i sur., 2021).



Slika 3. Aminokiselinski slijed brzodjelujućih inzulina

(preuzeto i prilagođeno prema Hirsch i sur., (2020) uz dopuštenje izdavača)

Ukupno gledajući, svi brzodjelujući analozi pokazuju bolju glikemijsku kontrolu i manji rizik od hipoglikemije te bolje djelovanje i sigurnost ukoliko se primjenjuju inzulinskim pumpama, u usporedbi s regularnim humanim inzulinom (Katzung i Vanderah, 2020; Mathieu i sur., 2021).

#### 4.2.2.3 Dugodjelujući inzulin

Bazalni inzulin odnosi se na stalnu, nisku razinu inzulina koja se luči kako bi se održale stabilne razine glukoze u krvi između obroka i tijekom noći. Važna je komponenta terapije nadomještanja inzulina, pogotovo za odgovarajuće suzbijanje glukoneogeneze u jetri (Hirsch i sur., 2020). Glavna prednost prvih dugodjelujućih analoga bilo je smanjenje rizika od noćne hipoglikemije, čime se značajno poboljšala kvaliteta života osoba s dijabetesom. Međutim, u usporedbi s NPH inzulinom, ovi analozi nisu doveli do značajne razlike u ukupnom smanjenju HbA1c (Mathieu i sur., 2021). Uzimajući u obzir rastući broj dijabetičara s potrebom za kontrolom glikemije, globalna potreba za bazalnim inzulinskim pripravcima premašuje onu za brzodjelujućim formulacijama. Unatoč ovoj velikoj potražnji, stabilizacija inzulinskog heksamera čini se da predstavlja veći izazov od njegove destabilizacije (Jarosinski i sur., 2022).

NPH ili Izofan inzulin je srednjedugog djelovanja - početak ostvaruje u razmaku 2 - 4 sata nakon primjene, vršno djelovanje postiže se za 6 - 7 sati, a sveukupno trajanje djelovanja iznosi 10 - 20 sati. Iako ima duže djelovanje od ljudskog regularnog inzulina, ono je nedovoljno za oponašanje dnevnog fiziološkog bazalnog otpuštanja inzulina kod osoba s teškim nedostatkom inzulina (Hirsch i sur., 2020; Katzung i Vanderah, 2020). NPH inzulin predstavlja mješavinu ekvivalentne doze protamina i prirodnog inzulina u vodi za injekcije, s fosfatnim puferom prilagođenim na pH 7,1 – 7,4 (Jacob i sur., 2018). Protamin, pozitivno nabijen protein, kristalizira s inzulinskim heksamerima, uzrokujući taloženje i rezultirajući suspenzijskom

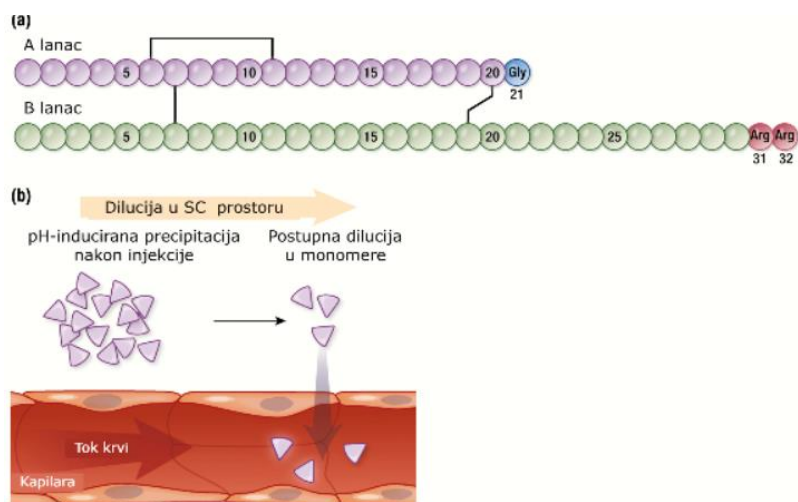


formulacijom inzulina. Kada se injektira, kristali protamin-inzulina polako se razdvajaju, odgađajući disocijaciju inzulinskih heksamera i tako usporavajući apsorpciju inzulinskih monomera u cirkulaciju (Hirsch i sur., 2020). Nakon supkutane injekcije, proteolitički tkivni enzimi razgrađuju protamin kako bi omogućili apsorpciju inzulina. NPH se može miješati s regularnim, lispro, aspart ili glulizin inzulinom. Kod pacijenata s DM2, NPH se može koristiti kao jednokratna ili dvokratna dnevna terapija; međutim, kod pacijenata s DM1, NPH se uglavnom koristi kao dvokratna dnevna terapija (Beals i sur., 2019). Doza regulira profil djelovanja, pri čemu manje doze imaju niže, ranije vrhove i kraće trajanje djelovanja, dok veće doze imaju suprotan učinak (Katzung i Vanderah, 2020). Ovaj oblik inzulina ne smije se primjenjivati intravenskim putem..

Fokus tijekom razvoja bolje bazalne inzulinske terapije bilo je postizanje formulacija koje pokazuju ravnije, stabilnije farmakokinetičke profile i dulje trajanje djelovanja. Tri su komercijalno dostupna dugodjelujuća analoga bazalnog inzulina koji smanjuju rizik od hipoglikemije i broj potrebnih injekcija na dnevnoj bazi za postizanje glikemijske kontrole – glargin, detemir i degludek (Beals i sur., 2019).

Inzulin glargin (U100) nastao je dodavanjem dviju argininskih molekula na C-kraj B lanca i zamjenom glicina za asparagin na poziciji A21 (Slika 4). Dodavanje arginina pomaklo je izoelektričnu točku prema neutralnijem pH 6,7, a zamjena asparagina glicinom na A21 osigurava poboljšanu kemijsku stabilnost u kiselj otopini (formuliranoj na pH 4) (Hirsch i sur., 2020). Ova modifikacija rezultira analogom koji je topiv u kiselj otopini, ali se u neutralnijem pH tijela taloži (Katzung i Vanderah, 2020). Talog koji nastane nakon supkutane injekcije polako se otapa, s relativno konstantnom stopom apsorpcije bez izraženog pika i niskom, ali kontinuiranom koncentracijom cirkulirajućeg inzulina (Hirsch i sur., 2020; Beals i sur., 2019). Inzulin glargin ima spor početak djelovanja (30 min - 1 sat) i trajanje djelovanja do 24 sata. Obično se daje jednom dnevno, iako neki pojedinci vrlo osjetljivi na inzulin (koji zahtijevaju doze manje od 20 jedinica dnevno) ili oni inzulin-rezistentni (koji zahtijevaju vrlo velike doze) mogu imati koristi od doziranja dva puta dnevno. Interakcija glargina s inzulinskim receptorom slična je onoj nativnog inzulina i ne pokazuje povećanje mitogene aktivnosti *in vitro*. Općenito, ovaj inzulinski analog se ne miješa s drugim inzulinama. Prelazak s NPH inzulina na inzulin glargin rezultira boljom glikemijskom kontrolom, što se očituje nižim razinama glukoze u krvi natašte i smanjenjem broja noćnih hipoglikemijskih epizoda (Mathieu i sur., 2021). Kod prelaska s terapije NPH doziranim dvaput dnevno, na glargin koji se daje jednom dnevno,

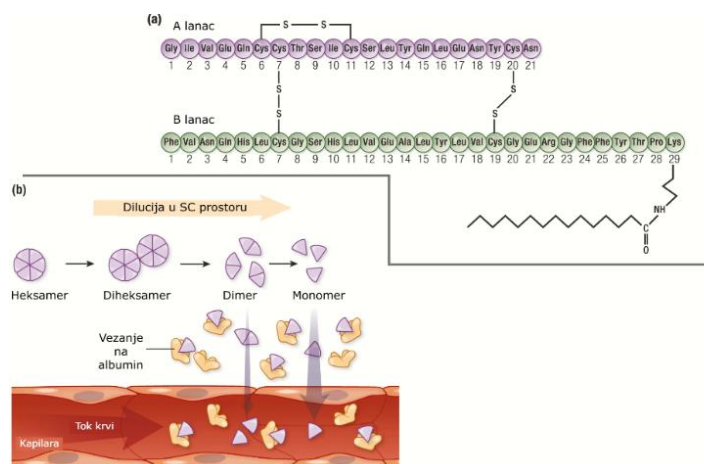
preporučuje se smanjenje početne doze NPH inzulina za približno 20 % ukupne dnevne doze tijekom prvog tjedna, nakon čega slijede prilagodbe ovisne o odgovoru pacijenta na terapiju. Međutim, kod prelaska s jedne doze NPH inzulina na jednom dnevno inzulina glargina, nije preporučeno mijenjati početnu dozu (Jacob i sur., 2018). Napredak u terapiji dugodjelujućim inzulinima doveo je do razvoja koncentriranijeg inzulina glargina (U300), koji dobio odobrenje FDA-a za primjenu 2015. godine, time postavši prvi odobren bazalni inzulin ultradugog djelovanja. Produženo trajanje djelovanja od 32 sata pripisuje se kompaktnijem supkutanom depou (Mathieu i sur., 2021). Veća koncentracija omogućuje primjenu trećine volumena inzulina glargina manje koncentracije (U100), što se ispostavilo kao velika prednost jer manji volumen stvara supkutani precipitat manje površine koji ima produženo i konstantno otpuštanje inzulina u krvotok te dovodi do stabilnije bazalne koncentracije ravnijeg vrha djelovanja koji drži kontrolu glukoze za oko 5 sati duže od U100. Usporedbe inzulina glargin U100 i U300 u pacijenata s DM1 pokazale su slična smanjenja HbA1c, ali manji rizik od teške hipoglikemije (posebno noćne) za inzulin glargin U300, osobito tijekom prvih 8 tjedana nakon početka liječenja. Prednost ovog koncentriranog oblika inzulina glargina nad inzulinom glarginom U100 je konstantnije i ujednačenije održavanje normoglikemije, kao i duže trajanje djelovanja s uočenom manjom varijabilnosti glukoze unutar dana i između više dana (Wilson i Castle, 2020; Beals i sur., 2019). U drugoj studiji, ispitanicima je bilo potrebno 17,5 % više U300 nego U100 inzulina glargina za podjednaku kontrolu glukoze. U studijama na pacijentima s DM2, bilo je potrebno prosječno 12 % više U300 nego U100 inzulina glargina za isti učinak na regulaciju glukoze (Hirsch i sur., 2020). Ovaj rezultat vjerojatno je posljedica povećane enzimske inaktivacije lijeka tkivnim peptidazama u supkutanom tkivu zbog dužeg vremena zadržavanja U300 (Beals i sur., 2019). S druge strane, preporučuje se smanjenje doze do 20 % kako bi se smanjio rizik od hipoglikemije pri prelasku s U300 na U100 inzulina glargin (Hirsch i sur., 2020).



Slika 4. Inzulin glargin (a). aminokiselinski slijed (b). mehanizam otpuštanja nakon sc primjene (preuzeto i prilagođeno prema Hirsch i sur., (2020). uz dopuštenje izdavača).

Inzulin detemir, odobren od FDA-a 2005. godine, je pH-neutralan inzulinski analog kod kojeg je terminalni treonin uklonjen s pozicije B30, a miristinska kiselina (C-14 masna kiselina) je vezana za lizin na poziciji B29 (Slika 5). Nakon injekcije i razrjeđenja konzervansa u supkutanom području, masni acilni bočni lanac stabilizira heksamere koje ovaj analog tvori pri neutralnom pH i potiče njihovo samoasociranje u diheksamere. Ovaj proces produžuje zadržavanje detemira na mjestu injekcije usporavajući disocijaciju heksamera i kasniju apsorpciju monomera. Miristinski bočni lanac također omogućuje nekovalentno vezivanje za serumski albumin čime se usporava premještanje detemira u periferna tkiva i njegovo uklanjanje iz tijela (Hirsch i sur., 2020). Navedene modifikacije umanjuju aktivnost i afinitet detemira u odnosu na humani inzulin. Stoga, U100 formulacija detemira sadrži četiri puta više proteinskih molekula po mililitru nego druge U100 formulacije (Jarosinski i sur., 2022). Inzulin detemir se ne smije miješati s regularnim inzulinom ili brzodjelujućim inzulinskim analogima. Prijelaz s NPH na inzulin detemir obično ide u omjeru 1:1, uz manje prilagodbe, ovisno o ostvarenoj glikemijskoj kontroli (Jacob i sur., 2018). U usporedbi s NPH inzulinom, inzulin detemir ima sporiji početak djelovanja, s vrhuncem djelovanja nakon 6 sati i trajanjem djelovanja do 24 sata. Međutim, u usporedbi s drugim dugodjelujućim analogima, inzulin detemir ima kraće trajanje djelovanja te kod pacijenata s DM1 može biti propisan kao terapija koja se daje dvaput dnevno kako bi se postigla stabilna pokrivenost za bazalnim potrebama (Hirsch i sur., 2020). Pacijenti s DM2, posebno s višim indeksom tjelesne mase, također mogu trebati veće doze inzulina detemira u usporedbi s inzulinom glarginom ili NPH inzulinom (Hirsch i sur., 2020). Trajanje djelovanja inzulina detemira ovisi o dozi. Kada se daje u niskoj dozi (0,1 - 0,2 i.j./kg), trajanje je 5 - 12 h, pri srednjoj dozi (0,6 i.j./kg) oko 20 sati, a pri visokoj

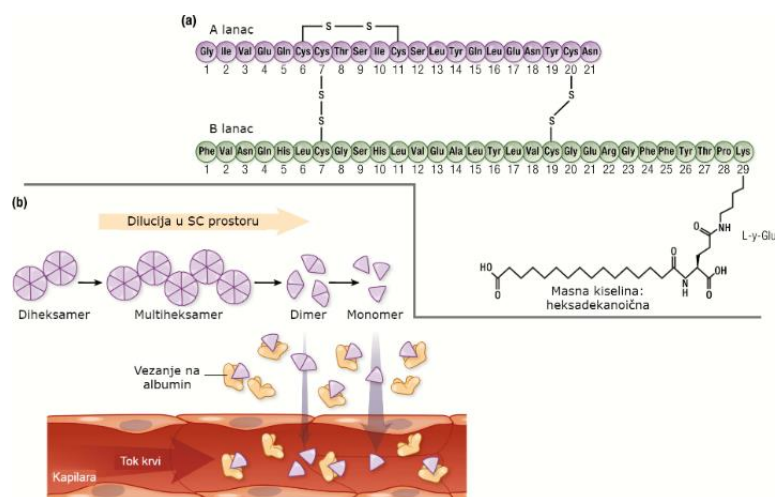
dozi ( $>0,6$  i.j./kg) trajanje djelovanja je između 22 i 24 sata (Jacob i sur., 2018). U usporedbi s NPH inzulinom, inzulin detemir rezultira stabilnijim profilima glukoze, što se odražava kao bolja ukupna glikemijska kontrola, s nižim razinama glukoze u krvi natašte i manje epizoda noćne i teške hipoglikemije. Varijabilnost glikemije je znatno smanjena s inzulin detemirom i u usporedbi s inzulin glarginom pri čemu je bitno naglasiti i smanjenje noćne i ozbiljne hipoglikemije. Prednost detemira pred glarginom i NPH, koja mu omogućuje takvo djelovanje nakon supkutane primjene, je zadržavanje u otopljenom obliku, dok u druga dva slučaja dolazi do stvaranja precipitata (Mathieu i sur., 2021; Hirsch i sur., 2020). Pozitivna strana detemira, unatoč potrebnoj većoj dnevnoj bazalnoj dozi, je povezanost s nešto manjim povećanjem tjelesne mase u usporedbi s drugim inzulinima (Mathieu i sur., 2021). Iako mehanizam nije dobro razumljiv, moguće je da inzulin detemir pojačava signalizaciju u hipotalamusu u centru za kontrolu apetita (Jarosinski i sur., 2022).



Slika 5. Inzulin detemir (a). aminokiselinski slijed (b). mehanizam otpuštanja nakon sc primjene (preuzeto i prilagođeno prema Hirsch i sur., (2020). uz dopuštenje izdavača).

Inzulin degludek, drugi ultradugodjelujući inzulinski analog dostupan na tržištu, dobio je odobrenje FDA-a za primjenu 2015. godine (Mathieu i sur., 2021). U ovom dugodjelujućem inzulinskom analogu treonin na poziciji B30 je uklonjen, a lizin na poziciji B29 konjugiran je s 16-C masnom kiselinom preko  $\gamma$ -L-glutamilnog mosta (engl. *spacer*), po čemu se razlikuje od detemira (Slika 6). U prisutnosti fenola i cinka, otopljeni inzulin degludek postoji u obliku diheksamera u zatvorenoj konfiguraciji kao rezultat interakcije između bočnog lanca masne kiseline jednog heksamera i cinkovog atoma susjednog heksamera. Nakon supkutane injekcije, kada se vezane molekule konzervansa uklone, dolazi do samoasociranja diheksamera u multiheksamere. Posljedična difuzija cinka s krajeva lanca rezultira raspadanjem terminalnih

heksamera u dimere, koji se zatim postupno oslobađaju u monomere i apsorbiraju u sistemsku cirkulaciju. Upravo ovako složene karakteristike samoasocijacije i disocijacije rezultiraju time da inzulin degludek pokazuje najduže trajanje djelovanja na mjestu injiciranja u usporedbi sa svim drugim bazalnim inzulinima (Beals i sur., 2019). Produženom vremenskom profilu djelovanja pogoduje i vezanje monomera za albumin u cirkulaciji, preko modifikacija na poziciji B29, što usporava raspodjelu degludeka u periferna tkiva i njegovo uklanjanje iz tijela (Hirsch i sur., 2020). Vezanje za albumine je u slučaju degludeka efikasnije nego ono u slučaju detemira zbog veće dužine lanca masne kiseline (Jarosinski i sur., 2022). Inzulin degludek dostupan je u dvije koncentracije, U100 i U200, sličnih farmakokinetičkih svojstava. Poluvrijeme eliminacije ovog inzulina je 25 sati. Početak djelovanja je između 30 i 90 minuta, a trajanje djelovanja je više od 42 sata, s karakteristikom stabilnog i ravnomjerno raspodijeljenog profila snižavanja glukoze (Mathieu i sur., 2021; Katzung i Vanderah, 2020). Ovako dugačko trajanje djelovanja degludeka mora se uzeti u obzir kada pacijent treba biti na postu zbog kirurškog zahvata ili prilikom prelaska na drugi bazalni inzulin jer može doći do prolongiranog djelovanja inzulina. Posebno je prelazak s degludeka na terapiju inzulinskom pumpom koja se temelji na brzodjelujućim inzulinima (Hirsch i sur., 2020). Ravniji farmakokinetičko/farmakodinamički profil inzulina degludeka rezultira smanjenim rizikom od noćne hipoglikemije u usporedbi s inzulinom glarginom U100 i 4 puta manjom dnevnom varijabilnošću u učinku snižavanja glukoze (Mathieu i sur., 2021; Wilson i Castle, 2020). Jedna od prednosti ovog inzulina je i smanjenje rizika od dijabetičke ketoacidoze u osoba s DM1 (Wilson i Castle, 2020). Zbog sporog nakupljanja, dugog trajanja djelovanja i ravnog, predvidljivog farmakodinamičkog profila, degludek se može dozirati bilo kada tijekom dana (Beals i sur., 2019). Preporučuje se injiciranje jednom ili dvaput dnevno kako bi se postigla stabilna bazalna pokrivenost (Wilson i Castle, 2020).



Slika 6. Inzulin degludek (a). aminokiselinski slijed (b). mehanizam otpuštanja nakon sc primjene (preuzeto i prilagođeno prema Hirsch i sur., (2020). uz dopuštenje izdavača).

#### 4.2.3 Miješani inzulinski pripravci

Miješani inzulin predstavlja kombinaciju dugodjelujućeg i kratkodjelujućeg inzulina za precizniju kontrolu šećera u krvi kod određenih osoba s dijabetesom (Preiato, 2021). Ove formulacije pružaju kombinaciju postprandijalne i bazalne glikemijske kontrole pri istovremenoj primjeni u jednom peni, pojednostavljujući režim liječenja sa smanjenim brojem dnevnih injekcija u usporedbi s klasičnom bazal-bolusnom terapijom. Posebno su korisne u zemljama u razvoju i za intenziviranje liječenja DM2 u razvijenom svijetu (Jarosinski i sur., 2022). S obzirom na to da farmakodinamički i farmakokinetički profili pojedinih komponenti ove mješavine ostaju isti, miješani inzulin se može injicirati prije jela 1 – 3 puta dnevno. Klinički su najprikladniji za osobe s ustaljenim unosom hrane i vremenom obroka jer se pojedine komponente inzulina ne mogu zasebno prilagođavati (Hirsch i sur., 2020).

Miješani inzulini mogu kao baznu komponentu imati humani inzulin ili inzulinski analog. Mješavine humanog inzulina kombiniraju NPH inzulin s humanim regularnim inzulinom u omjerima 70/30 (NPH/R), odnosno 50/50 (Hirsch i sur., 2020). Ovi inzulini su uglavnom unaprijed pomiješani od strane proizvođača kako bi se olakšala uporaba te da ih pacijenti ne moraju miješati *ex tempore* (Beals i sur., 2019). U takvoj se formulaciji dio regularnog inzulina veže za NPH inzulin, no nakon injiciranja, ta veza nestaje. Kinetika humanog regularnog inzulina predodređuje da je mješavinu potrebno injicirati 30 - 45 minuta prije obroka. Jednom injicirana, ovakva mješavina pruža sličan početak djelovanja kao U100 regularni inzulin, ali s nižim pikom (vjerojatno zbog niže koncentracije regularnog inzulina) i dužim trajanjem

djelovanja zbog NPH (Hirsch i sur., 2020). Ove formulacije su često preferirane zbog poboljšane točnosti doziranja i kontrole glikemije. No, zbog toga što NPH inzulinu treba nekoliko sati da dostigne zadovoljavajuću terapijsku koncentraciju, ipak je potrebna i uporabu brzodjelujućih inzulina. Varijabilnost djelovanja NPH može dovesti do veće učestalosti hipoglikemije i lošije kontrole glukoze u krvi u usporedbi s monoterapijama (Mathieu i sur., 2021). Kako bi se to riješilo, po uzoru na NPH, razvijeni su srednje-dugodjelujući inzulini koje čine kompleksi protamina s brzodjelujućim inzulinskim analogima - neutralni protamin lispro (NPL, u DM2 može se primjenjivati jedan puta dnevno) i aspart protamin (Katzung i Vanderah, 2020; Beals i sur., 2019). Predmiješane kombinacije, poput NPL/inzulin lispro u omjerima 75/25 ili 50/50 te inzulin aspart-protamin/inzulin aspart u omjeru 70/30 nude prednosti poput bržeg početka djelovanja i mogućnosti injiciranja 15 minuta prije ili nakon obroka. Ove mješavine su superiorne u kontroli naglih porasta glukoze nakon obroka bogatih ugljikohidratima i pokazuju manju varijabilnost postprandijalne glukoze u usporedbi s tradicionalnim mješavinama 70 % NPH/30 % regularnog inzulina (Katzung i Vanderah, 2020).

Inzulin glargin i inzulin detemir ne mogu se miješati u istoj štrcaljki s drugim inzulinima, no razvoj inzulina degludeka kao bazalnog analoga bez izraženog pika doveo je do njegove uporabe u mješavini s 25 % inzulina asparta (Jarosinski i sur., 2022; Katzung i Vanderah, 2020). To je jedina mješavina dvaju analoga inzulina i formuliran je bez protamina (Hirsch i sur., 2020). Primjenjuje se 1 – 2 puta dnevno s glavnim jelima, iako, po potrebi, zahtjeva i primjenu brzodjelujućih inzulina prije manjih obroka, a nudi smanjen rizik od hipoglikemije, posebice noćne (Mathieu i sur., 2021; Beals i sur., 2019). Dokazano je da u pacijenata s DM1, ova kombinacija ima duže djelovanje od ostalih kombinacija u odnosu 70/30. Prednost mješavina temeljenih na analogima je njihova mogućnost primjene bliže obroku, što je pacijentima prihvatljivije (Hirsch i sur., 2020).

Kod DM1 može se uz inzulinske analoge primjenjivati i pramlintid, analog amilina, čime se oponaša njihovo prirodno izlučivanje iz  $\beta$  stanica (Jarosinski i sur., 2022). Amilin se normalno u organizmu izlučuje zajedno s inzulinom, ali su njegove razine u plazmi 20 – 40 puta niže od razine inzulina, a u DM1 se uopće ne izlučuje. Njegovi fiziološki mehanizmi uključuju povećanje sitosti i time smanjenje unosa hrane, sporije pražnjenje želuca i inhibiciju izlučivanja glukagona te se pramlintid koristi kako bi na taj način smanjio postprandijalne skokove glukoze. Iako je mehanizam djelovanja koji dovodi do odgođenog pražnjenja želuca doveo do željenih rezultata, upravo je zbog toga mučnina najčešća nuspojava uporabe pramlinitida. Kod

započinjanja terapije pramlintidom može se pojaviti i postprandijalna hipoglikemija, stoga se preporučuje smanjenje doze postprandijalnog inzulina (Jarosinski i sur., 2022; Wilson i Castle, 2020). Ako se koristi zajedno s inzulinom, pramlintid može produžiti vrijeme održavanja euglikemije, može smanjiti debljanje i učestalost hipoglikemije. Miješanje ovih hormona bilo je otežano zbog inkompatibilnosti pramlintida s inzulinom koja može dovesti do taloženja, zahtijevajući zasebna injiciranja. Kako bi se prevladala ova prepreka, razvijene su pumpe koje isporučuje fiksni omjer pramlintida i inzulina (6  $\mu\text{g}/\text{U}$ ) te se također istražuje nova polimerno-stabilizirana koformulacija (Jarosinski i sur., 2022).

Kombinacija GLP-1 agonista s bazalnim inzulinom je uvedena kako bi se smanjio rizik od hipoglikemije i broj injekcija te ograničilo dobivanje na težini povezano s primjenom inzulina, što se pokazalo učinkovitom strategijom kod pacijenata s DM2 (Mathieu i sur., 2021). Iako i inzulinski i inkretinski analozi snižavaju razinu glukoze u krvi, to čine različitim mehanizmima. GLP-1 potiče povećanje sekrecije inzulina iz  $\beta$ -stanica te smanjuje sekreciju glukagona iz  $\alpha$ -stanica, uz minimalan rizik od hipoglikemije. Osim toga, pozitivno djelovanje GLP-1 agonista je smanjenje tjelesne težine, što im je danas jedna od glavnih indikacija. S druge strane, terapija bazalnim inzulinom povećava cirkulirajući inzulin na način neovisan o glukozi, poboljšava funkciju  $\beta$ -stanica i regulira proizvodnju glukoze. Međutim, istovremeno nosi rizike povećanja tjelesne težine i hipoglikemije. Stoga je kombinacija ovih dviju terapija vrlo komplementarna, upotpunjavaju se njihove terapijske prednosti dok se smanjuju neželjeni učinci (Beals i sur., 2019). Trenutno su komercijalno dostupne dvije kombinacije bazalnog inzulina i GLP-1 agonista: inzulin glargin s liksisenatidom i inzulin degludek s liraglutidom. Obje se mješavine danas koriste za liječenje pacijenata s DM2 kod kojih je uočeno značajnije sniženje HbA1c u odnosu na bilo koji lijek u monoterapiji. Dodatno, kombinacija smanjuje tjelesnu težinu za 1,5 - 2,2 kg u odnosu na inzulinsku komponentu u monoterapiji (Mathieu i sur., 2021).

Istraživanja s različitim omjerima inzulina i glukagona sugeriraju da fiksna mješavina može smanjiti rizik od hipoglikemije, ublažiti povećanje tjelesne težine uzrokovano inzulinom i potencijalno dovesti do gubitka težine ako se koristi dugodjelujući analog glukagona. Temelj uspješnosti ove kombinacije je poticanje fiziološke jetrene glukoneogeneze i otpuštanja glukoze. Daljnja istraživanja koristi istovremene primjene ova dva hormona ukazat će na njihov klinički potencijal te moguće koristi u odnosu na ostale kombinacije (Jarosinski i sur., 2022).



## 4.3 Inzulin kao doping sredstvo

### 4.3.1 Zabranjena sredstva u sportu

Doping u sportu Svjetska antidopinška agencija (engl. *World Antidoping Agency*, WADA) definira kao uporabu zabranjenih supstanci ili provođenja zabranjenih metoda (Heidet i sur., 2019). WADA je osnovana 1999. godine s ciljem promicanja, koordinacije i nadzora borbe protiv dopinga u sportu (Tokarz i sur., 2018). *Performans-enhancing drugs* (PED) su farmakološke supstance koje sportaši koriste za poboljšanje sportskih izvedbi te postizanje vitkije ili mišićavije figure. Danas su popularne supstance koje pripadaju različitim kategorijama, a najčešće zloporabljene su anabolički androgeni steroidi (AAS). Osim AAS-ova, sportaši zlorabe i druge hormone s potencijalnim anaboličkim djelovanjem, poput ljudskog inzulina, hormona rasta (GH) i inzulinu sličnog faktora rasta-1 (IGF-1), često zajedno radi postizanja sinergističkog djelovanja. Dokumentirana je i široko rasprostranjena zloraba stimulativnih supstanci poput klenbuterola, derivata amfetamina, efedrina, pseudoefedrina i kofeina među sportašima (Haerinejad i sur., 2016). WADA i Međunarodni olimpijski odbor (engl. *International Olympic Committee*, IOC) reguliraju PED-ove u sportu te igraju ključnu ulogu u osiguravanju poštene konkurencije i zaštite zdravlja sportaša. WADA je razvila popis zabranjenih tvari i metoda u sportu. Popis se ažurira godišnje, a uključuje i inzulin. IOC ima politiku nulte tolerancije prema dopinga što dodatno provode i suradnjom s nacionalnim antidopinškim organizacijama (NADA) (Tokarz i sur., 2018).

Krajem 1990-ih postalo je jasno da je potreban usklađeniji pristup u borbi protiv dopinga. Prva svjetska konferencija o dopinga 1999. godine dovela je do osnivanja WADA-e. WADA je 2003. godine sastavila prvi Svjetski antidopinški kodeks, dokument koji su podržali delegati na Drugoj svjetskoj konferenciji o dopinga u sportu u Kopenhagenu. WADA je pozvala sve sudionike da se usklade s Kodeksom, uključujući sportaše i njihove sponzore, sportske saveze, Olimpijski pokret i vlade. Kodeks je prvi put primijenjen na Olimpijskim igrama u Ateni 2004. godine. Krajem desetljeća, većina sportova, osim nekih profesionalnih sportova u Sjedinjenim Američkim Državama, boksačkih federacija i sportova iz sfere *bodybuildinga*, podržala je WADA-u, a mnoge vlade su potpisale UNESCO-vu međunarodnu konvenciju protiv dopinga u sportu iz 2005. godine (Mottram i Chester, 2018).

Zabranjene tvari i metode uključene su na WADA-in popis ako ispunjavaju dva od sljedeća tri kriterija: postoje dokazi da imaju potencijal za poboljšanje sportskih performansi; upotreba

tvari ili metode predstavlja zdravstveni rizik; upotreba tvari ili metode krši duh sporta. Jednom kada supstanca ili metoda postane dio popisa, WADA razvrstava doping u kategorije: tvari i metode zabranjene u svakom trenutku (u i izvan natjecanja); tvari i metode zabranjene u natjecanju; te tvari zabranjene u određenim sportovima. Tvari i metode zabranjene u svakom trenutku imaju potencijal olakšavanja prilagodbe treningu i kao posljedica toga, ili direktno, bolju izvedbu u natjecanjima. Za razliku od toga, tvari i metode zabranjene u natjecanju imaju trenutačno i kratkotrajno djelovanje u promjeni sposobnosti tijela da se prilagodi određenoj vježbi i izvedbi. Tvari zabranjene u određenim sportovima pak predstavljaju direktnu korist ili opasnost u jednom sportu, dok u drugom nema značajnog utjecaja, npr. alkohol u motosportovima (Rahman i sur., 2021; White i Kahn, 2021; Bird i sur., 2016). Doping sredstava kategorizirana kao „Hormoni i metabolički modulatori“ (S4) čine supstance zabranjene u svakom trenutku, u i izvan natjecanja (Mottram i Chester, 2018). Inzulin pripada kategoriji metaboličkih modulatora (Bird i sur., 2016). Nakon zabrinutosti koje je iznio ruski medicinski službenik na Olimpijskim igrama u Naganu 1998. godine, IOC je zabranio upotrebu inzulina sportašima bez dijabetesa, uglavnom zbog anaboličkih učinaka i povećanja sadržaja glikogena u mišićnom tkivu (Thevis, 2022; Holt i Sönksen, 2009).

*Bodybuilding* je sport povezan s ciljem razvoja mišićne hipertrofije i snage te niskog postotka tjelesne masti, a do 70 % takvih sportaša pribjegava dijetetskim modifikacijama kako bi postigli zadane morfološke ciljeve, pogotovo mlađi amateri (Heidet i sur., 2019). Da bi poboljšali ove učinke, sportaši često zlorabe WADA-om zabranjene lijekove, uključujući inzulin. Uloga regulatornih agencija u *bodybuildingu* je, kao i u drugim sportovima, da osigura poštenu konkurenciju i zaštitu zdravlja sportaša. Međutim, učinkovitost trenutnih propisa i napora u provedbi je upitna zbog sve veće raširenosti upotrebe PED-ova u *bodybuildingu*, kako kod profesionalnih, tako i kod sportaša amatera i rekreativaca zbog lake dostupnosti pripravaka putem interneta i crnog tržišta (Mantri i sur., 2023; Anderson i sur., 2018).

Ključni element u otkrivanju zabranjene tvari je činjenica da je ona obično strana ljudskom organizmu i može se lako izolirati i identificirati odgovarajućim analitičkim metodama. Uz ubrzani tehnološki napredak, razvijaju se novi terapijski pristupi koji uključuju biološke lijekove te nadomjeske hormona, od kojih se neki potencijalno mogu zlorabiti za poboljšanje sportske izvedbe. Zbog sličnosti s endogenim tvarima, predstavljaju izazov za detekciju, čemu doprinosi i relativno kratko poluvrijeme eliminacije, kao i način metabolizma (Mottram i Chester, 2018).

Pregled metoda za analizu inzulina pokazuje da se osim pristupa temeljenih na imunološkim testovima (npr. ELISA), koji jedva omogućuju razlikovanje između endogenog hormona i njegovih sintetskih ili životinjskih analoga, uglavnom se koriste metode temeljene na LC-MS za otkrivanje inzulina iz uzoraka urina ili krvi. Zbog niskih koncentracija inzulina u urinu ili krvi, uglavnom su razvijeni visokoosjetljivi LC-MS testovi za potrebe kontrole dopinga. Iako je postignut veliki napredak u analizi inzulina u posljednjem desetljeću, otkrivanje zlorabe rekombinantnog humanog inzulina još uvijek predstavlja izazov i do danas je neriješen problem u antidopinškim kontrolama (Katzung i Vanderah, 2020).

#### 4.3.2 Izvanterapijska primjena inzulina kod *bodybuildera*

Osim uporabe u medicinske svrhe, inzulin kao anabolički hormon svoje mjesto nalazi i u *bodybuildingu*, pri čemu se koristi kao ergogeni pomagač za brzi dobitak mišićne mase uz intenzivne treninge s otporom. Takav učinak postiže favoriziranjem stvaranje većih molekula od manjih, tj. sprječava proteolizu i podržava izgradnju proteina iz aminokiselina te skladištenje glikogena i hranjivih tvari. Također stimulira endogeno izlučivanje hormona rasta, koji ima lipolitičke učinke. Zloupotreba inzulina je česta među *bodybuilderima*, kojima je cilj razviti veliku mišićnu masu i nizak postotak tjelesne masti (Heidet i sur., 2019).

U krugovima *bodybuildera*, inzulin se predstavlja kao anabolička supstanca za dobitak mišića ako se primjeni u kratkom vremenskom intervalu nakon vježbanja, jer je onda značajno povećana osjetljivost na inzulin u skeletnim mišićima, favorizirajući povećan inzulinom stimulirani unos glukoze dovodeći time do veće sinteze proteina i glikogena (skladišni oblik ugljikohidrata) u mišićnim stanicama, za razliku od skladištenja masnih kiselina u masnom tkivu. Inhibicijom proteolize limitira se katabolički učinak do kojeg dolazi nakon intenzivnog treninga te se povećava učinkovitost samog treninga u postizanju hipertrofije mišića. Korišten na taj način, nakon kratkog vremena inzulin može proizvesti brze i vidljive mišićne dobitke, pri čemu mišići izgledaju puniji i bolje definirani (Bosy-Westphal i sur., 2017; Llewellyn, 2017). Osim estetike, inzulin utječe i na poboljšanje izvedbi, što ovisi o zalihama glikogena u mišićima. Što su zalihe veće, vrijeme koje osoba može izdržati trenirajući bez iscrpljenosti je duže, a oporavak između treninga i natjecanja kraći (Mottram i Chester, 2018; Benni i Patil, 2016). Inzulin omogućava da u stanicu uđe količina glukoze koja je veća od one potrebne za stanično disanje te onda višak formira energetski depo u obliku glikogena, a povećanje tog depoa ima važnu ulogu u oporavku mišića nakon napora (Petrović i sur., 2015). Povećane

koncentracije inzulina potiču transport aminokiselina u mišićne stanice, prevodeći ih u proteine te prevenirajući razgradnju već postojećih proteina u staničnom citosolu i organelima (Ghorbani i Hashtrudi, 2016). Treba uzeti u obzir da inzulin ne potiče sintezu proteina direktno, već je bitno da je hranom unesena dovoljna količina aminokiselina kojima onda inzulin olakšava put u stanice. Niske fiziološke koncentracije inzulina inhibiraju razgradnju proteina i povećavaju odlaganje glukoze u skeletne mišiće, dok su za stimulaciju sinteze proteina potrebne više, nefiziološke koncentracije (Preiato, 2021). Sposobnost inzulina u poticanju anabolizma mišića također je posljedica njegove vazodilatatorske uloge. Povećani protok krvi pomaže dostaviti više hranjivih tvari, glukoze i aminokiselina u mišiće, povećavajući dobitak mišićne mase. Inzulin, kao glavni hormon za transport hranjivih tvari u tijelu, omogućuje stanicama da transportiraju glukozu i aminokiseline kroz plazma membranu čak i kada su razine ovih makronutrijenata niske (Petrosino, 2019; Llewellyn, 2017). Inzulin i indirektno potiče izgradnju mišića hipoglikemijskim efektom koji pojačava apetit te inhibicijom oksidacije masnih kiselina u mišićima, zbog čega ga neki *bodybuilderi* koriste više puta dnevno radi. No, dugotrajno, inzulin svoje središnje djelovanje ostvaruje smanjenjem apetita i povećanjem energetske potrošnje (Anderson i sur., 2018; Fink i sur., 2018).

*Bodybuilderi* inzulin koriste u sezoni izvan treninga, obično injiciranjem unutar 15 minuta nakon treninga, uz 10 - 15 grama ugljikohidrata po jedinici ubrizganog inzulina te obaveznih 100 grama, neovisno o dozi, odmah nakon injiciranja (<https://4allfamily.com/blogs/diabetes/insulin-for-bodybuilding>; Llewellyn, 2017). Većina ubrizgava između 2 i 15 i.j. inzulina (najčešće 10) i konzumira hranu i pića koja sadrže šećer kako bi izbjegli hipoglikemiju. Kratkodjelujuće vrste inzulina se gotovo isključivo koriste u *bodybuildingu* zbog njihovog brzog početka djelovanja i kratkog trajanja. Inzulin se u ove svrhe najčešće primjenjuje supkutano iako postoji i intramuskularna opcija, no uz nju se veže povećani rizik od hipoglikemije zbog prenog otpuštanja. U ove svrhe inzulin se primjenjuje u ciklusima od više tjedana, najčešće 10 – 12 tjedana (Ibanez i sur., 2014).

#### 4.3.3 Polifarmacija lijekova za poboljšanje performansa

Lijekovi za poboljšanje performansi i izgleda, uz inzulin, uključuju anaboličke androgene steroide (AAS), beta-agoniste (npr. klenbuterol), ljudski korionski gonadotropin (hCG), hormon rasta (GH) i druge prohormone. Ove tvari se često koriste zajedno s diureticima, inzulinu-sličnim faktorom rasta-I (IGF-I), efedrinom, antiestrogenskim lijekovima (npr.

tamoksifen), inhibitorima 5- $\alpha$ -reduktaze i luteinizirajućim hormonom (LH). Neke od ovih tvari uzimaju se u *bodybuildingu* zbog sinergističkih anaboličkih učinaka s inzulinom, što je važan čimbenik njegove izvanterapijske primjene (Preiato, 2021; Fomiatti i sur., 2020; Mottram i Chester, 2018).

AAS su najčešće korištene tvari za poboljšanje tjelesnih performansi i izgleda (Birzniece, 2015). Originalno namijenjeni uporabi u medicinske svrhe, AAS su sada popularni među *bodybuilderima* zbog utjecaja na povećanja snage, izdržljivosti i mišićne mase. AAS su sintetske supstance izvedene iz testosterona (npr. androstendion, dehidroepiandrosteron i dr.) koje se međusobno razlikuju po omjeru anaboličkog i androgenog djelovanja. Ubrizgavaju se za potrebe *bulkinga* (povećanje mišićne mase izvan natjecanja) ili *cuttinga* (smanjenje postotka masnog tkiva dok mišićna masa ostaje ista kao i prije natjecanja) (Fink i sur., 2018). Djeluju mijenjanjem transkripcije gena nakon vezanja za nuklearne steroidne receptore, sprječavajući kataboličke učinke i promičući povećanje mišićne mase i snage, čak i uz minimalni trening. Korištenje AAS-a povećava sintezu i smanjuje razgradnju proteina, povećava lipolizu, smanjuje postotak tjelesne masnoće, povećava gustoću kostiju, eritropoezu (i time povezanu veću količinu dostavljenog kisika u mišićima) te rezerve glikogena (Fink i sur., 2018; Holt i Sönksen, 2009). AAS se često kombiniraju s drugim tvarima za povećanje anaboličkog (GH, IGF-I) djelovanja, za poboljšanje gubitka masnoće i vode (diuretici,  $\beta$ 2-adrenergički agonisti) ili za smanjenje nuspojava androgena (inhibitori aromataze, selektivni modulatori estrogenskih receptora - SERM) (Birzniece, 2015). Međutim, AAS su povezani s ozbiljnim zdravstvenim komplikacijama, uključujući promjene lipidnog profila, aterogenezu, nefrotoksičnost i hepatotoksičnost (Heidet i sur., 2019). Jedna od čestih kombinacija AAS-a je ona s inzulinom koja predstavlja potentni stimulans za trening povećavajući brzinu metabolizma, anabolizam i u konačnici rast mišića (<https://4allfamily.com/blogs/diabetes/insulin-for-bodybuilding>). AAS ne potiču transport aminokiselina iz krvi u tkiva, što je jedan od učinaka inzulina. Anabolizam je u ovoj kombinaciji rezultat sinergizma dvaju različitih mehanizama – inzulin pojačava transport nutrijenata u stanice mišića te inhibira razgradnju proteina, dok AAS istovremeno snažno potiču sintezu proteina. Upravo zato, ovo postaje sve češća kombinacija u svijetu *bodybuildera*, pogotovo onih od kojih se ne zahtijevaju dopińska testiranja (Llewellyn, 2017). Uz anaboličko djelovanje, primjena testosterona je pokazala da ima pozitivan učinak na smanjenje inzulinske rezistencije (Fink i sur., 2018).

Nakon intenzivnog treninga s utezima, uočeno je da uz steroidne hormone, rastu i vrijednosti proteinskih hormona poput hormona rasta i inzulinu-sličnog faktora rasta-I (Fink i sur., 2018).

Inzulin, GH i IGF-1 imaju sinergističke anaboličke učinke na metabolizam proteina. Inzulin inhibira razgradnju proteina, dok GH i IGF-I izravno potiču sintezu proteina, a kombinirana upotreba AAS-a i ovih hormona može značajno poboljšati mišićnu masu u usporedbi s njihovom pojedinačnom upotrebom (Fink i sur., 2018; Holt i Sönksen, 2009).

Ljudski hormon rasta postao je popularan kao sredstvo za poboljšanje performansi početkom 1990-ih razvojem poboljšanog rekombinantnog oblika, unatoč tome što je godinama bio zabranjen i uvršten na WADA-in popis zabranjenih tvari. GH stimulira sintezu proteina mehanizmom različitim od anaboličkih steroida, što je navelo mnoge sportaše da kombiniraju GH s inzulinom i anaboličkim steroidima u različitim dozama tijekom različitih treninga i dijetalnih režima (Fink i sur., 2018; Holt i Sönksen, 2009). Kontinuirana infuzija ili bolus injekcija GH stimulira lipolizu i povećava koncentracije slobodnih masnih kiselina natašte, s vršnim učincima oko 2 - 3 sata nakon injekcije, a pokazalo se da primjena GH-a smanjuje abdominalnu masnoću kod pretilih muškaraca (Haerinejad i sur., 2016; Holt i Sönksen, 2009). Takvi anabolički i lipolitički učinci GH-a, koji povećavaju postotak mišićne mase, a smanjuju postotak masti u tijelu, glavni su razlozi popularnosti u sportskim krugovima. GH povećava proizvodnju glukoze natašte u jetri, tj. povećava glukoneogenezu i glikogenolizu te smanjuje perifernu upotrebu glukoze inhibicijom sinteze glikogena i oksidacije glukoze. S obzirom na to da sportaši koriste doze GH-a i do 10 puta veće od onih koje propisuju endokrinolozi, rizik od razvoja dijabetesa je povećan. Uz dijabetes, rizik od mogućeg razvoja akromegalije, hipertenzije i Creutzfeldt-Jakobove bolesti također predstavlja veliki nedostatak uporabe GH-a, pogotovo u visokim dozama (Heidet i sur., 2019; Holt i Sönksen, 2009). GH može izazvati inzulinsku rezistenciju, doprinoseći time kardiovaskularnim rizicima. Istovremena primjena inzulina može obnoviti normalan transport glukoze u skeletnim mišićima i ublažiti učinke povišenih razina GH. Upravo je izbjegavanje negativnog utjecaja na inzulinsku osjetljivost još jedan od razloga zašto korisnici AAS-a kombiniraju GH s inzulinom (Fink i sur., 2018; Holt i Sönksen, 2009). Otkrivanje zloupotrebe GH-a je teško jer je GH prirodno prisutna tvar u tijelu, uz to što je sama sekrecija GH-a stimulirana vježbanjem i stresom, često dosežući vrhunac nakon natjecanja, upravo kada se provodi većina doping testova.

Glavni anabolički učinci GH-a smatraju se neizravnima, posredovani su djelovanjem glavnog perifernog produkta GH, a to je IGF-I iz jetre (Fink i sur., 2018). Prevalencija zloupotrebe IGF-I je mnogo niža nego GH-a, jer za razliku od GH-a, ne postoji lako dostupan prirodni izvor pa se sav IGF-I dobiva rekombinantnom DNA tehnologijom (Holt i Sönksen, 2009). IGF-I je traženo doping sredstvo zbog svojih anaboličkih svojstava, kao što je sposobnost povećanja

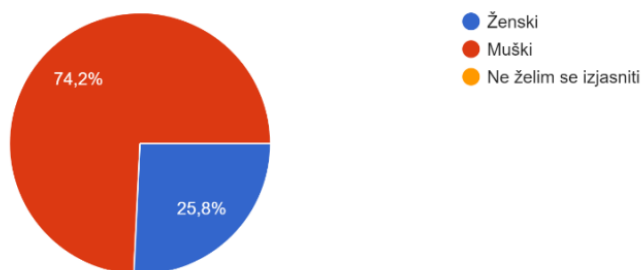
volumena mišićnih vlakana poticanjem proliferacije i diferencijacije okolnih satelitskih stanica (Fink i sur., 2018). Inzulin i IGF-I zajedno dodatno pojačavaju anaboličke reakcije i dostupnost glukoze za korištenje u mišićima (Holt i Sönksen, 2009). Dok inzulin potiče unos aminokiselina i anabolizam proteina u skeletnim mišićima smanjujući razgradnju proteina, IGF-I stimulira sintezu proteina. Nakon systemske primjene IGF-I, serumski inzulin i aminokiseline se smanjuju, prvi zbog smanjene proizvodnje, a drugi kao rezultat povećane eliminacije iz krvi. To smanjuje stimulaciju sinteze proteina u cijelom tijelu, ali ako se aminokiseline i inzulin nadoknade tijekom primjene, učinak IGF-I na sintezu proteina postaje očigledan. Povećanja IGF-I stimuliraju sintezu proteina, a za inhibiciju razgradnje proteina potrebne su veće koncentracije, što je suprotnost inzulinu čije niske fiziološke koncentracije inhibiraju proteolizu i povećavaju odlaganje glukoze u skeletne mišiće, dok su za stimulaciju sinteze proteina potrebne više, nefiziološke koncentracije. Učinci IGF-I na metabolizam glukoze u velikoj mjeri nalikuju učincima inzulina. Supkutana infuzija IGF-I također uzrokuje hipoglikemiju, ali učinak je sporiji nego kod inzulina i smanjuje se sporije nakon prestanka infuzije zbog prisutnosti IGF-vezujućih proteina u cirkulaciji. No, IGF-I povećava osjetljivost na inzulin i time povećani periferni unos glukoze i smanjenu proizvodnju glukoze u jetri (Birzniece, 2015; Holt i Sönksen, 2009). Budući da IGF-I potiče proliferaciju stanica, inhibira apoptozu i ulazi u interakcije s putovima koji imaju ulogu u karcinogenezi, zloupotreba IGF-I može povećati rizik od raka. U stanicama ljudskog raka dojke, AAS uzrokuje povećanje ekspresije aromataze i proizvodnje estradiola ovisno o dozi, a taj učinak se pojačava istodobnom primjenom IGF-I. Štoviše, zajednička primjena AAS i IGF-I inducira značajnu proliferaciju stanica raka. Kod ljudi je tako zabilježena pozitivna povezanost između cirkulirajućeg IGF-I i učestalosti raka prostate i kolorektalnog raka (Birzniece, 2015).

## 4.4 Ispitivanje učestalosti izvanterapijske uporabe inzulina među *bodybuilderima*

U svrhu boljeg razumijevanja izvanterapijske primjene inzulina u *bodybuildera*, provedena je anonimna anketa pomoću *Google Docs* alata. Anketa koju je sačinjavalo ukupno 16 pitanja (Prilog) je bila dostupna za *online* ispunjavanje od 1. svibnja do 26. lipnja 2024. Ispitanicima je naglašeno da se ova anketa provodi u sklopu izrade diplomskog rada te da je njihovo sudjelovanje dobrovoljno i anonimno. Cilj ankete bio je ispitati učestalost uporabe inzulina kod *bodybuildera* te svijest o njegovu štetnom djelovanju.

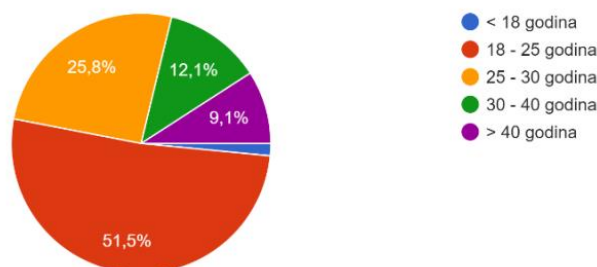
Anketu je ispunilo ukupno 66 ispitanika koji se bave *bodybuildingom*. Demografski podaci ispitanika prikazani su Slikama 7-9.

Spol  
66 odgovora



Slika 7. Spol ispitanika

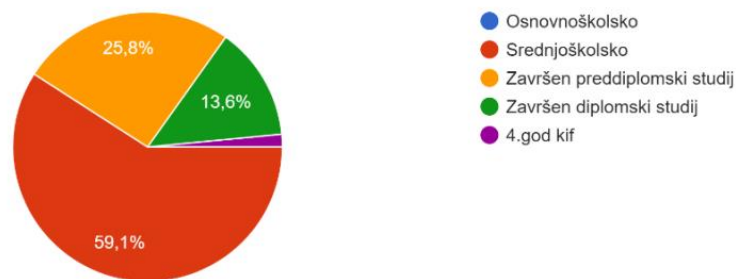
Dob  
66 odgovora



Slika 8. Dob ispitanika



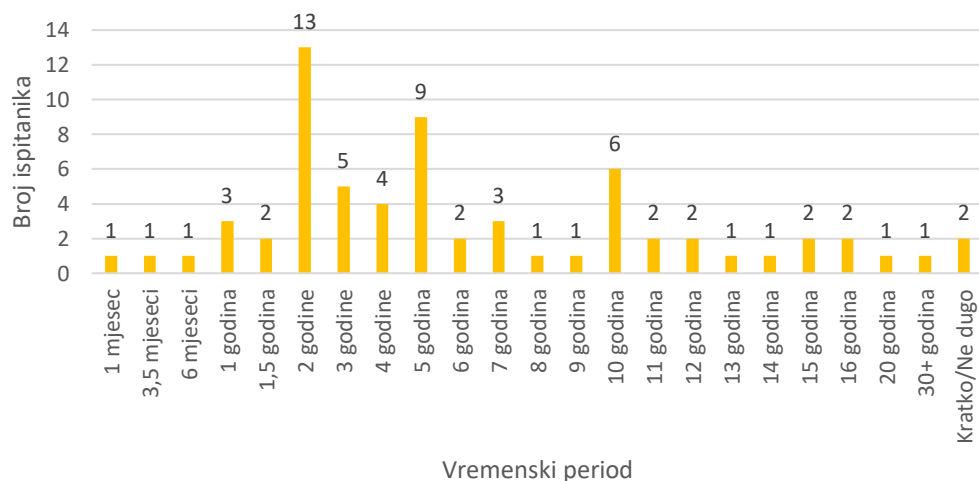
Najviša razina postignutog obrazovanja:  
66 odgovora



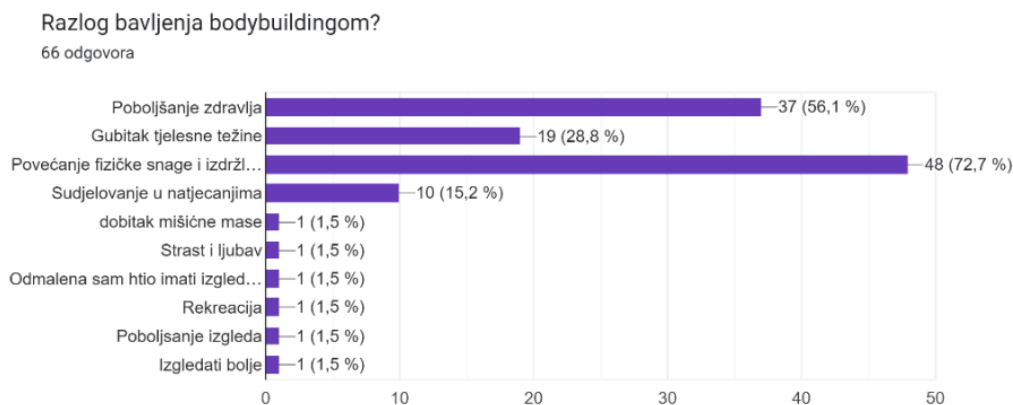
Slika 9. Najviša razina postignutog obrazovanja

Više od polovice ispitanih, njih 49 (74,2 %) izjašnjava se kao pripadnicima muškog spola, dok ostatak, njih 17 (25,8 %), čine pripadnice ženskog spola. Većina sudionika (51,5 %) pripada dobnoj skupini 18 – 25 godina te ima označeno srednjoškolsko obrazovanje (59,1 %) kao najvišu postignutu razinu obrazovanja.

Ispitanici navode da se *bodybuildingom* bave od jedan mjesec do više od 30 godina (Slika 10). Kao dva glavna razloga bavljenja *bodybuildingom*, navode povećanja fizičke snage i izdržljivosti (72,7 %) te poboljšanje zdravlja (56,1) (Slika 11).



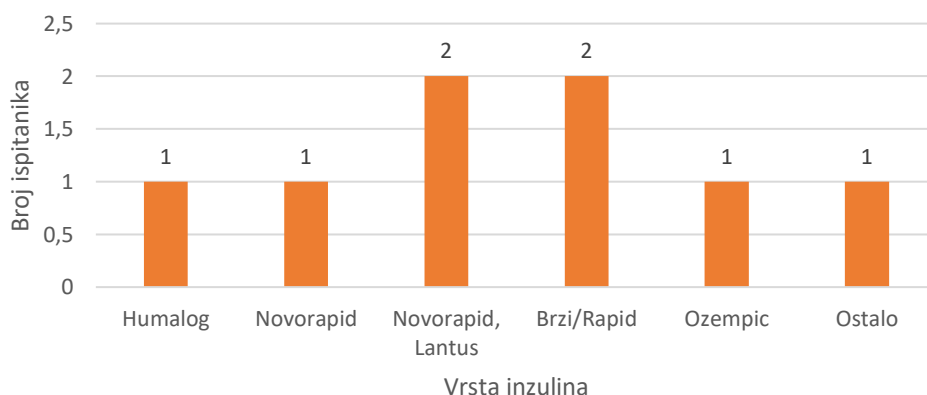
Slika 10. Trajanje bavljenja *bodybuildingom*



Slika 11. Razlog bavljenja *bodybuildingom*

Od 66 ispitanika, njih 8 (12,1 %) je odgovorilo potvrdno na pitanje koriste li inzulin u izvanterapijske svrhe te su odgovarali na ostala pitanja u trećem dijelu ankete..

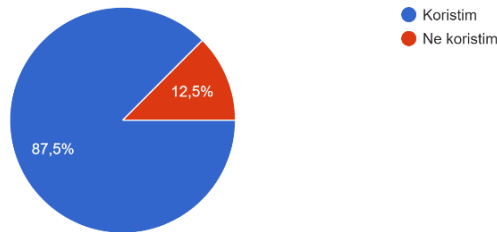
Pitanje o vrsti inzulina koju koriste bilo je karaktera slobodnog unosa odgovora. Većinom koriste neki oblik brzodjelujućeg inzulina, najviše se spominje Novorapid (inzulin aspart), sam ili u kombinaciji s Lantusom (inzulin glargin). Dva su odgovora bili upitnog karaktera. Jedan ispitanik navodi da koristi Ozempic, tj. GLP-1 agonist semaglutid, dok je drugi napisao „ne koristim“, iako se u prethodnom odgovoru izjasnio o korištenju u izvanterapijske svrhe (Slika 12).



Slika 12. Vrste inzulina koje se koriste

Koristite li druge aktivne tvari, uz inzulin, za poboljšanje performansa u bodybuildingu?

8 odgovora



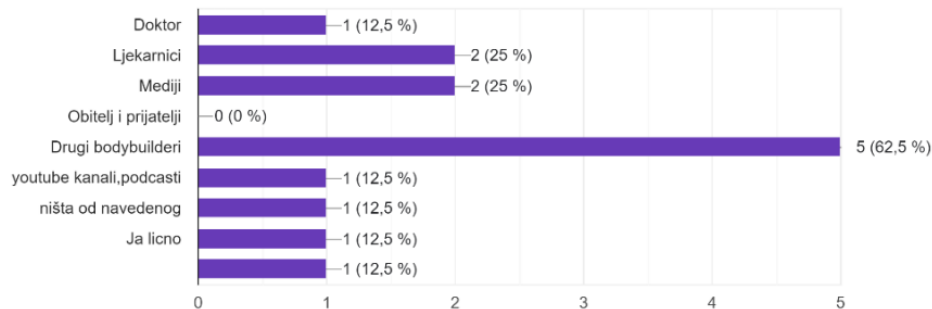
Slika 13. Primjena drugih aktivnih tvari za poboljšanje performansa u *bodybuildingu*

Čak 87,5 % *bodybuildera* u ovom ispitivanju uz inzulin koriste i druge aktivne tvari za poboljšanje performansa (Slika 13).

Većinom svoje informacije dobivaju od drugih *bodybuildera* (62,5 %), dok su mediji i ljekarnici na drugom mjestu (Slika 15). Kao glavne razloge uzimanja inzulina navode poboljšanje fizičkog izgleda (62,5 %) i bolje rezultate na natjecanjima (37,5%) (Slika 16)..

Koji su Vaši izvori informacija o inzulinu?

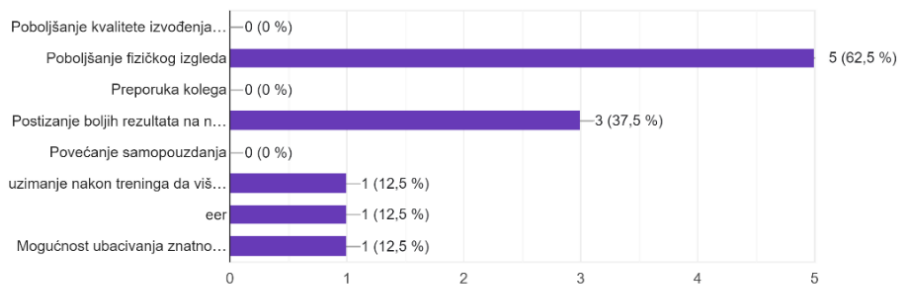
8 odgovora



Slika 15. Izvori informacija o inzulinu

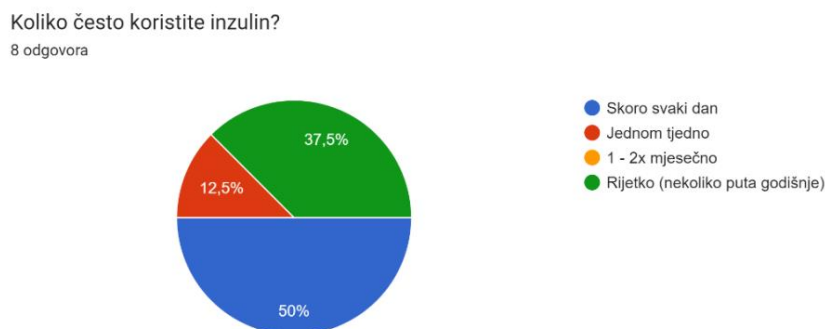
Koji je Vaš glavni razlog uzimanja inzulina?

8 odgovora



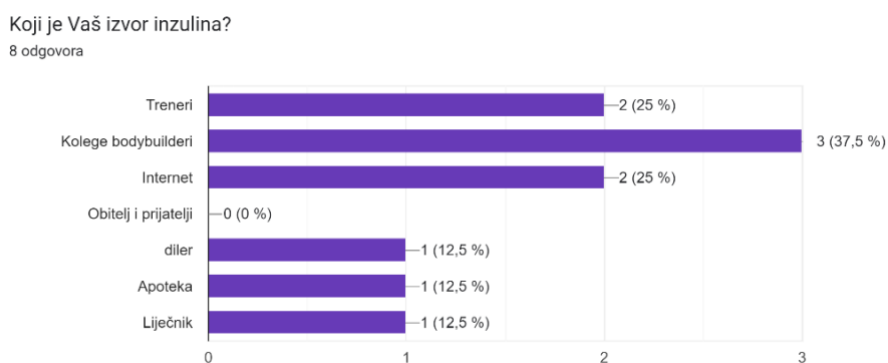
Slika 16. Razlozi uzimanja inzulina

Troje ispitanika (37,5 %) inzulin koristi svega nekoliko puta godišnje, dok četvero (50 %) inzulin koristi svaki dan (Slika 17).



Slika 17. Učestalost primjene inzulina

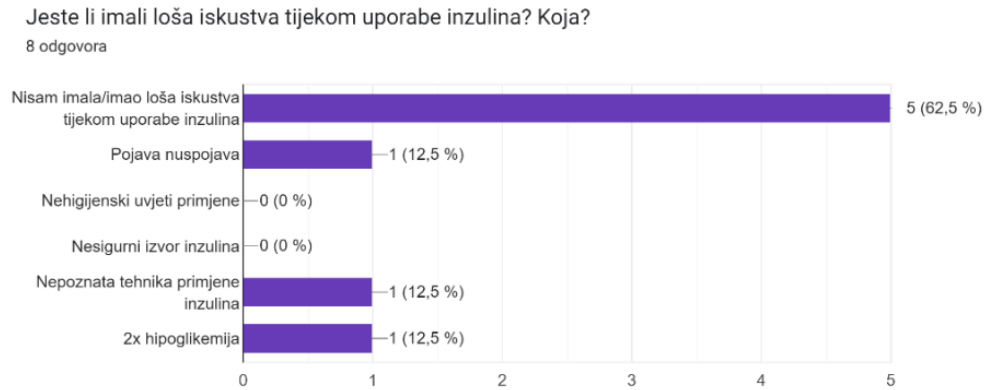
Izvor inzulina uglavnom pronalaze u drugim *bodybuilderima* (37,5 %) ili na internetu te od trenera (25 %). Od nuspojava povezanih s izvanterapijskom primjenom inzulina, najviše su upoznati s hipoglikemijom (87,5 %) te posljedičnom komom i smrću (75 %), a njih 62,5 % navodi da dosad nisu imali loša iskustva tijekom uporabe inzulina (Slike 18-20).



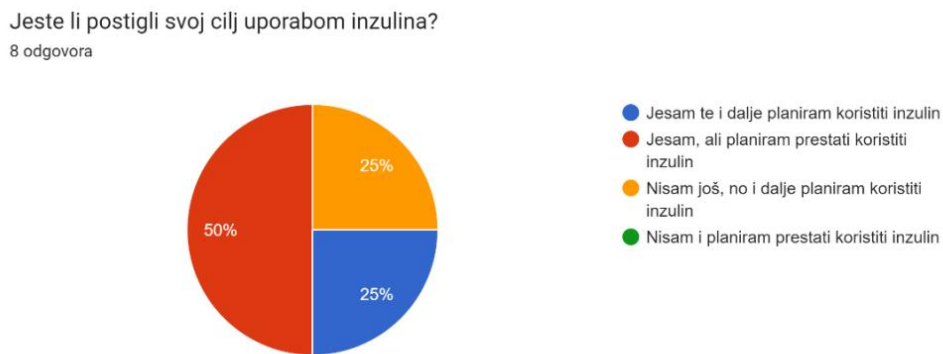
Slika 18. Izvor inzulina



Slika 19. Upoznatost s nuspojavama izvanterapijske primjene inzulina



Slika 20. Loša iskustva tijekom primjene inzulina



Slika 21. Stavovi o primjeni inzulina

Od 8 *bodybuildera* koji koriste inzulini u izvanterapijske svrhe, njih 4 je postiglo svoj cilj te planira prestati koristiti inzulini, a ostatak planira i dalje koristiti inzulini kako bi postigli svoj cilj ili održali postignuto stanje (Slika 21).

Učestalost uporabe inzulina među *bodybuilderima* u Hrvatskoj je temeljem rezultata ovog kratkog anketnog istraživanja još uvijek niska, od 66 ispitanika, njih 8 (12,1 %) se izjasnilo da koriste inzulini u izvanterapijske svrhe. Uglavnom se koriste brzodjelujući analozi, ali dva ispitanika uz brzodjelujuće koriste i dugodjelujuće inzuline, što nije uobičajena praksa uporabe inzulina kao doping sredstva. Dokaz da je *bodybuilding* scena usko povezana supkultura, pokazuje najučestaliji odgovor da *bodybuilderi* informacije o inzulinu te sam izvor inzulina pronalaze u svojim kolegama *bodybuilderima*. Svijest o mogućim nuspojavama varira. Dok su za hipoglikemiju i njezine posljedice čuli gotovo svi, za ostatak mogućih nuspojava čulo je 50 % ispitanika ili manje. Razlog tomu je možda podatak da se 62,5 % njih nije susrelo s

nuspojavama, ili barem toga nisu svjesni, pa nisu dodatno istraživali moguće nuspojave osim najpoznatije hipoglikemije s kojom se jedan sudionik i susreo 2 puta. Čak 75 % ispitanika navodi da su uočili napredak nakon uporabe inzulina, tj. da je njihov originalni cilj bio postignut te ih čak 50 % planira i dalje koristiti inzulin. Dok su *bodybuilderi* upoznati s anaboličkim djelovanjem inzulina, koji je i glavni razlog uporabe u izvanterapijske svrhe te je lako uočljiv, sama svijest o mogućim nuspojavama je ipak slabija jer, osim hipoglikemije, većina se razvija kroz duži period te nisu lako uočljive.

#### 4.4.1 Sportaši na terapiji inzulinom

Kada sportaš treba koristiti lijek koji se nalazi na WADA-inom Popisu zabranjenih tvari, npr. sportaši s dijabetesom ovisnim o inzulinu, sportaš i liječnik moraju dobiti terapijsko izuzeće (engl. *therapeutic use exemption*, TUE). kako bi izbjegli sankcije povezane s analitičkim nalazom tijekom antidopinškog testiranja (Mottram i Chester, 2018). TUE omogućuje korištenje lijeka ili metode jer ono dokazano neće pružiti konkurentsku prednost, već samo osigurava da se sportaš može natjecati u odgovarajućem zdravstvenom stanju (<https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list>). TUE obično izdaju međunarodne federacije ili nacionalne antidopinške organizacije, a zahtjeve razmatraju paneli nezavisnih liječnika (Povjerenstvo za terapijska izuzeća).

Kriteriji za dobivanje TUE uključuju sljedeće kriterije:

1. Sportaš bi imao značajne zdravstvene probleme bez uzimanja zabranjene tvari ili metode.
2. Terapijska uporaba tvari ne bi značajno poboljšala performanse.
3. Ne postoji razumna terapijska alternativa za uporabu inače zabranjene tvari ili metode.
4. Potreba za korištenjem tvari ili metode nije rezultat prethodne uporabe te tvari ili metode bez TUE koja je bila zabranjena u vrijeme uporabe (Mottram i Chester, 2018).

Upravljanje dijabetesom kod sportaša često uključuje liječenje pacijenata s dijagnosticiranim DM1 jer su sportaši obično fizički aktivniji i mlađi, što su dva faktora koja smanjuju rizik razvoja inzulinske rezistencije i DM2. Sportaši s nekompliranim DM1 sposobni su za istu razinu fizičke izvedbe i kapaciteta kao i zdrave osobe. Vježbanje je ključna komponenta upravljanja dijabetesom i kod nesportaša te je povezano s pozitivnim učincima na glikemijsku kontrolu, održavanje kardiovaskularnog zdravlja, smanjenje smrtnosti i povećanje ukupne kvalitete života. Pri planiranju inzulinskog režima, medicinski stručnjaci moraju uzeti u obzir

vrstu, trajanje i intenzitet vježbanja koje sportaš izvodi. Režim mora biti u potpunosti individualiziran s mogućnošću revizije nakon uočenih negativnih učinaka. Glavni ciljevi upravljanja primjenom inzulina u vezi s vježbanjem su izbjegavanje hipoglikemije uzrokovane vježbanjem, sprječavanje hiperglikemije i ketoze te osiguravanje optimalne fizičke izvedbe. Fizička aktivnost dovodi do složenog balansa više procesa za održavanje euglikemije, uključujući povećanje perifernog unosa glukoze, lučenje glukagona, glikogenolizu i glukoneogenezu u jetri te lipolizu. Uz to, postoje kontraregulatorni odgovori koji uključuju oslobađanje hormona rasta, kortizola i adrenalina. Ove promjene osiguravaju odgovarajuće zalihe energije za održavanje duljih razdoblja vrhunske fizičke izvedbe i pripremaju sportaša za buduću fizičku aktivnost. Ova faza oporavka može trajati između 24 i 72 sata nakon vježbanja. Za razliku od fiziološke izbalansirane kontrole nad lučenjem i djelovanjem inzulina u različitim uvjetima, uključivo i povećanu intenzivnu fizičku aktivnost, to nije slučaj kod egzogenog unosa inzulina (Ferry i sur., 2020).

Briga o sportašu s dijabetesom zahtijeva individualizirani, multidisciplinarni pristup, uključujući praćenje glukoze u krvi, unos ugljikohidrata i prilagodbu doza inzulina. Sportaš bi trebao planirati unos dodatnih ugljikohidrata ako neočekivano vježba i nije u mogućnosti prilagoditi svoj inzulinski režim unaprijed ili ako sudjeluje u dugotrajnom vježbanju (npr. >1 sat). Ugljikohidrate treba konzumirati prije početka vježbanja ako je razina glukoze u krvi manja od 5,6 mmol/L, ako sportaš doživi stanje prave hipoglikemiju (tj. razina glukoze u krvi padne ispod 3,9 mmol/L) tijekom ili nakon završetka vježbanja. Treba povećati unos ugljikohidrata tijekom vježbanja - pojesti 30 - 60 g ugljikohidrata prije dugotrajnog vježbanja (npr. >1 sat po sesiji) i razmotriti povećanje unosa ugljikohidrata za intenzivno vježbanje s kraćim intervalima. Unos ugljikohidrata veći od 60 g može biti potreban ovisno o odgovoru sportaša na aktivnost i njezino trajanje. Nakon svake sesije vježbanja, zalogaj treba pojesti unutar 30 minuta od prestanka vježbanja. Često praćenje glukoze u krvi važno je za titraciju inzulina kod sportaša i prevenciju hipo- ili hiperglikemije. Preporuča se testiranje prije i nakon obroka, 2 sata nakon obroka, prije, tijekom i nakon vježbanja te noću ako postoji zabrinutost zbog hipoglikemije. Nužnost mjerenja noćnih vrijednosti procjenjuje se ako se provodila intenzivnija aktivnost, vježbanje je dulje trajalo, nedavno je uveden novi režim treniranja ili postoji povijest teških hipoglikemijskih događaja. Preporučuje se češće praćenje glukoze (npr. svakih 30 minuta) tijekom produžene aktivnosti i nakon vježbanja (npr. svakih 2 - 4 sata) s obzirom na mnoge faktore koji utječu na homeostazu glukoze u krvi i faze fizioloških učinaka koji se javljaju oko vježbanja. Stoga je mnogim sportašima s dijabetesom korištenje

kontinuiranog praćenja glukoze korisna opcija, jer može pomoći u prepoznavanju razdoblja hipoglikemije ili hiperglikemije bez povećanog opterećenja kapilarnim provjerama glukoze. Nedostatak ove tehnologije je što obično kasni za kapilarnim vrijednostima glukoze 10 - 20 minuta, jer mjeri razine glukoze u intersticijskoj tekućini pa neće potpuno eliminirati potrebu za nekim testiranjima glukoze u krvi (Ferry i sur., 2020).

Strategije smanjenja doza inzulina posebno su prilagođene pacijentima na inzulinskoj pumpi, a posebno onima s višestrukim dnevnim injekcijama. Nastavak primjene standardne doze inzulina uz obrok s naknadnim vježbanjem povezan je s višim rizikom od hipoglikemije bez obzira na intenzitet vježbanja, što empirijski dovodi do potrebe za smanjenjem doze inzulina za očekivanu fizičku aktivnost. Inzulinska pumpa nudi veliku fleksibilnost u isporuci inzulina te su sportaši koji tako primaju kontinuiranu supkutanu infuziju u smanjenom riziku od hiperglikemije nakon vježbanja bez istovremenog povećanja rizika od hipoglikemije u usporedbi s višestrukim dnevnim injekcijama.

Primjena inzulinske pumpe uključuje:

- smanjiti bazalnu stopu inzulina 1 - 2 sata prije vježbanja za 20 % - 50 %,
- razmotriti nastavak smanjenja bazalne stope za 20 % nakon vježbanja tijekom 24 - 72 sata,
- smanjiti bolus inzulina za 50 % uz obrok prije vježbanja,
- smanjiti večernji bolus inzulina za 50 % ako postoji zabrinutost za noćnu hipoglikemiju,

Doziranje s višestrukim dnevnim injekcijama:

- smanjiti bolus inzulina za 50 % uz obrok prije vježbanja,
- smanjiti večernji bolus inzulina za 50 % ako postoji zabrinutost za noćnu hipoglikemiju (Ferry i sur., 2020).



## 5 RASPRAVA

### 5.1 Nuspojave i štetne posljedice uporabe inzulina

#### Hipoglikemija

Hipoglikemijske reakcije su najčešća komplikacija terapije inzulinom. Najčešće se javljaju kod primjene kratkodjelujućeg inzulina ili inzulinskih analoga. Jedan od najvećih izazova kod korištenja egzogenog inzulina je odsutnost negativne povratne sprege i posljedični rizik od hipoglikemije (Mathieu i sur., 2021). Brz razvoj hipoglikemije kod osoba s očuvanom sviješću o hipoglikemiji uzrokuje znakove autonomne hiperaktivnosti - simpatičke (tahikardija, palpitacije, znojenje, drhtavica) i parasimpatičke (mučnina, glad), te može napredovati do konvulzija, kome pa i smrti ako se ne liječi (Katzung i Vanderah, 2020). Uz navedeno, simptomi blage do umjerene hipoglikemije uključuju i zamagljen vid, depresivno raspoloženje, vrtoglavicu, trnce u rukama, stopalima, usnama ili jeziku, nemogućnost koncentracije, glavobolju, poremećaje spavanja, anksioznost, nejasan govor, razdražljivost, nestabilno kretanje i promjene osobnosti. Ozljede uzrokovane gubitkom svijesti, do koje dolazi zbog teške hipoglikemije, također mogu biti vrlo ozbiljne za pacijenta (Llewellyn, 2017; Petrović i sur., 2015). Nakon primljene injekcije inzulina, osoba može primijetiti osjećaj pospanosti, što predstavlja rani simptom hipoglikemije i jasan znak da tijelo zahtjeva unos ugljikohidrata. U tom slučaju treba prevladati iskušenje za spavanjem, jer inzulin može doseći vrhunac djelovanja tijekom odmora, a time dovesti do znatnog pada razine glukoze u krvi i razvoja teške hipoglikemije. Stoga bi oni koji eksperimentiraju s inzulinom u izvanterapijske svrhe, trebali ostati budni za vrijeme trajanja učinka inzulina i izbjegavati njegovo korištenje u ranim večernjim satima kako bi izbjegli djelovanje tijekom noći (Llewellyn, 2017).

Hipoglikemija kod sportaša može biti multifaktorska. Fizička aktivnost sama po sebi predstavlja rizik od hipoglikemije, pogotovo kada se ubrizgava brzodjelujući inzulin prije treninga, povećavajući vjerojatnost pojave hipoglikemijskih epizoda. S obzirom na to da su mišići odgovorni za većinu ukupne potrošnje glukoze u tijelu, hipoglikemija nije rijetkost tijekom vježbanja te je prilično rijetka u mirovanju ili kod zdravih nesportaša (Heidet i sur., 2019; Petrović i sur., 2015). Hipoglikemija može nastati i zbog smanjenja unosa ugljikohidrata, smanjenja ukupnog unosa kalorija ili zbog produženih napora bez nutritivne podrške u sportaša. Budući da *bodybuilderi* predstavljaju skupinu koja je posebno sklona korištenju inzulina kako bi povećali mišićnu masu, postoje posebni rizici od hipoglikemije povezani s natjecateljskim *bodybuilderima* koji mogu koristiti inzulin uz istovremeni unos visokoproteinske,

niskouglikohidratne prehrane praćene treninzima s velikim opterećenjima prije natjecanja (Mottram i Chester, 2018). Stoga zdrave osobe koje koriste dodatni inzulin radi povećanja mišićne mase, riskiraju previsoke razine inzulina u krvotoku, što može smanjiti razinu glukoze u krvi do opasno niskih vrijednosti (Preiato, 2021).

Kod pacijenata izloženih čestim epizodama hipoglikemije, s vremenom autonomni signali upozorenja na hipoglikemiju postaju rjeđi ili čak odsutni. Ovo stanje, kada pacijenti nemaju rane znakove hipoglikemije, naziva se hipoglikemijska neosviještenost, zbog koje pacijenti ne poduzimaju korektivne mjere, poput unosa ugljikohidrata, na vrijeme. U pacijenata s postojanom, neliječenom hipoglikemijom, mogu se razviti manifestacije viška inzulina - konfuzija, slabost, abnormalno ponašanje, koma, napadaji, tijekom kojih možda neće moći pribaviti ili sigurno progutati hranu koja sadrži glukozu (Katzung i Vanderah, 2020). Većina osoba s DM2 ne doživljava simptome hipoglikemije, posebno kada zapoćnu terapiju bazalnim inzulinskim analogom, ali je prepoznato da u oba tipa dijabetesa mnoga hipoglikemijska stanja nisu zabilježena, osim ako se ne provodi kontinuirano mjerenje glukoze, posebno noću. Pokazalo se da je hipoglikemijska neosviještenost djelomićno reverzibilna i nije fenomen „sve ili ništa“ (Home i Itzhak, 2020). Svijest o hipoglikemiji može se vratiti sprječavanjem čestih epizoda hipoglikemije. Identifikacijsku narukvicu, ogrlicu ili karticu, kao i neki oblik brzoapsorbirajuće glukoze, trebaju nositi svi dijabetićari na hipoglikemijskoj terapiji. Za lijećenje blage hipoglikemije kod pacijenta koji je pri svijesti i može gutati, mogu se dati tablete dekstroze, gel glukoze ili bilo koje piće ili hrana koja sadrži šećer. Ako je teža hipoglikemija izazvala gubitak svijesti ili stupor, preporučeno lijećenje je 1 mg glukagona ubrizgano ili supkutano ili intramuskularno ili 3 mg intranazalnog glukagona. To može vratiti svijest unutar 15 minuta kako bi se omogućilo uzimanje šećera. Hitna medicinska služba trebala bi se pozvati u slučaju gubitka svijesti. Hitno osoblje može vratiti svijest davanjem 20 - 50 ml 50 % glukoze intravenoznim bolusom u trajanju 2 - 3 minute (Katzung i Vanderah, 2020).

Daleko najveći problem povezan s hipoglikemijom je dugotrajnost njezinih učinaka na doziranje inzulina, odnosno posljedićnom nemogućnošću titracije doza inzulina do razina koje postižu normoglikemiju. Posljedica su sve vaskularne komplikacije hiperglikemije. U uobićajenoj praksi, odnos između HbA1c i hipoglikemije se čini obrnuto proporcionalnim, s visokim rizikom pri nižem HbA1c. No potvrđeno je da oni koji nisu uspjeli postići optimalnu kontrolu glukoze, mjerenu kao viši HbA1c, imaju više zabilježenih hipoglikemijskih epizoda,

dok oni koji su uspješno smanjili HbA1c, imali su i manje problema s hipoglikemijom te niže stope kardiovaskularnih događaja.

Akutni kognitivni poremećaji hipoglikemije (konfuzija, usporeni misaoni proces, gubitak misaone funkcije) javljaju se kada se autonomni simptomi ignoriraju ili kada se ne pojave, često s duljim trajanjem dijabetesa, tijekom spavanja, i posebno kod starijih ljudi. Oštećenje mozga uzrokovano hipoglikemijom je rijetko, iako se smatra da kod dojenčadi i male djece može doći do neurorazvojnih poremećaja. Uloga ponovljene hipoglikemije u postupnom kognitivnom propadanju (razvoj demencije) nije u potpunosti jasna, dijelom zato što je hipoglikemija često povezana s arterijskom bolešću i lošijom samonjegovom, što otežava određivanje posljedično-uzročne veze. U specifičnim okolnostima alkoholne intoksikacije, teška hipoglikemija može biti produljena zbog neprepoznavanja simptoma i metaboličke blokade glukoneogeneze. Hipoglikemijska neosviještenost može biti izazvana hipotermijom, pa ako alkoholna intoksikacija dovede do izloženosti hladnom vremenu, može doći do produljene teške hipoglikemije te ozbiljnog i trajnog oštećenja mozga. I dalje nije potvrđeno može li bilo koji stupanj akutne hipoglikemije izazvati srčane događaje, ali je teška hipoglikemija sigurno povezana s visokim stopama kardiovaskularnih događaja kasnije (Home i Itzhak, 2020).

Hipoglikemija je uglavnom neugodna te ometa normalne dnevne aktivnosti, čak i spavanje. Ne samo da umanjuje kvalitetu života, već također predisponira pojedinca akutnim cerebrovaskularnim bolestima, neurokognitivnoj disfunkciji, retinopatiji i poremećajima spavanja. Ovi su učinci povezani s razvojem anksioznosti, straha te izbjegavanjem društva i povlačenjem u sebe, što kontinuirano utječe na svakodnevni život u razdobljima bez akutnih simptoma. Postavlja se pitanje utjecaja hipoglikemije na omjer koristi i rizika terapije inzulinom. Odgovor je u podnošljivosti te zapravo, osim osoba sa značajnim utjecajem drugih komorbiditeta na glikemijsku kontrolu i kod nekih pojedinaca s vrlo nestabilnom kontrolom glukoze, ovi štetni učinci hipoglikemije uzrokovani inzulinskom terapijom uglavnom su upravljivi i kod većine pacijenata s DM2 čak i odsutni (Mathieu i sur., 2021; Home i Itzhak, 2020).

Alergija na inzulin i imunosno-posredovana inzulinska rezistencija  
Alergija na inzulin je rezultat tjelesne preosjetljivosti na inzulin, rijetke pojave do koje dolazi zbog otpuštanja histamina iz mastocita nakon njihove aktivacije anti-inzulin IgE protutijelima. Alergija se očituje iritacijom, oteklinom, svrbežom i/ili crvenilom na mjestu injiciranja. Rijetko dolazi i do ozbiljnijih sistemskih reakcija koje uključuju osip, teškoće u disanju, ubrzan puls,

znojenje i/ili nizak tlak. U najgorem slučaju, dolazi do anafilaktičke reakcije. Stanje preosjetljivosti s vremenom popušta. Alergija na inzulinsku terapiju najčešće je preosjetljivost na neinzulinske proteine ili, u slučaju inzulina životinjskog podrijetla, onečišćenja, što je značajno smanjeno uporabom humanog inzulina i inzulinskih analoga.

Niski titar cirkulirajućeg IgG anti-inzulin protutijela, koji neutraliziraju djelovanje inzulina, u zanemarivoj mjeri nastaje u većini pacijenata na inzulinskoj terapiji. No, rijetko titar takvih protutijela može dovesti do inzulinske rezistencije i drugih sistemskih autoimunih bolesti poput eritemskog lupusa (Katzung i Vanderah, 2020; Llewellyn, 2017).

### Lipodistrofija

Jedna od potencijalnih nuspojava supkutanog injiciranja inzulina je nastanak male kvrge ili udubljenja na mjestu primjene injekcije. Takva se pojava naziva lipodistrofija, a rezultat je hipertrofije supkutanog masnog tkiva. Nije štetna, a najčešće se pojavljuje na području trbuha. Ova je nuspojava bila značajna dok je učestalost primjene inzulina životinjskog podrijetla bila češća, no od razvoja humanog inzulina i njegovih analoga, ova je komplikacija rijetko vidljiva. Rizik od nastanka nakon ubrizgavanja novijih inzulina je veći ako se uzastopno primjenjuju na isto mjesto, što je lako prevenirati ako se mjesta injiciranja rotiraju pri svakoj primjeni (Preiato, 2021; Katzung i Vanderah, 2020).

### Debljanje

Budući da inzulin povećava lipogenezu, može dovesti do povećanja masnog tkiva i time povezanog debljanja koje je uglavnom nepoželjno (Anderson i sur., 2018). Kako bi se stimulirao unos glukoze do polovine maksimalnog, razine inzulina moraju porasti na otprilike deset puta više razine od koncentracija inzulina natašte. A skroman porast (udvostručenje) razina inzulina natašte već će značajno inhibirati lipolizu i poticati lipogenezu dok glukoneogeneza još nije inhibirana. Budući da su takva mala povećanja sistemskih koncentracija inzulina dovoljna za favoriziranje adipogeneze, razine inzulina natašte i dnevne razine inzulina determinantne su za rizik od pretilosti (Kolb i sur., 2020).

Uobičajeno opaženo povećanje tjelesne težine i postotka masnog tkiva nakon početka terapije inzulinom kod pacijenata s DM2 može se pogrešno protumačiti kao dokaz da inzulin uzrokuje pretilost. Međutim, pacijenti koji su najviše dobili na težini nakon početka terapije bili su oni koji su imali najlošiju metaboličku kontrolu prije intenziviranja liječenja i koji su najviše izgubili na težini prije početka terapije inzulinom. Takvo povećanje tjelesne težine stoga se

može tumačiti kao nadoknada težine zbog normalizacije metabolizma - smanjenje metaboličke brzine (s padom glukoneogeneze) i povećanje metaboličke fleksibilnosti (odnosno povećanje postprandijalne oksidacije glukoze na račun oksidacije masti) (Bosy-Westphal i sur., 2017).

Korištenje inzulina za poboljšanje performansi i tjelesnog sastava može biti složeno jer ovaj hormon također može promicati skladištenje hranjivih tvari u masnim stanicama jer se višak neskladištene glukoze metabolizira u trigliceride. Istraživanja na sportašima su pokazala da strogi režim intenzivnog treninga s utezima i prehrana bez viška kalorija, unosa masti i previše ugljikohidrata visokog glikemijskog indeksa, omogućuju inzulinu da pokazuje mnogo veći afinitet za skladištenje proteina i glukoze u mišićnim (za razliku od masnih) stanicama te povećanje tjelesne težine ne stvara značajan problem u sportaša kao u dijabetičara (Kolb i sur., 2020; Llewellyn, 2017; Holt i Sönksen, 2009).

Rizik razvoja kardiovaskularnih događaja

Hiperinzulinemija, izazvana intravenskim infuzijama inzulina u kombinaciji s glukozom (kako bi se spriječila hipoglikemija), povisuje krvni tlak. Fiziološki učinci akutne primjene inzulina uključuju povećani ukupni periferni otpor i smanjenu sposobnost bubrega da izlučuje natrij. Ova inzulinom-izazvana hipertenzija posredovana je angiotenzinom II, hormonom koji potiče oslobađanje aldosterona. Aldosteron kontrolira krvni tlak i volumen utječući na reapsorpciju natrija i izlučivanje kalija u bubrezima. Lijekovi iz skupine inhibitora RAAS mogu ublažiti povećanje krvnog tlaka izazvano inzulinom, uz provođenje kardiovaskularnih aktivnosti (npr. hodanje, trčanje, plivanje, aerobik i dr.) (Petrosino, 2019).

Dugotrajno liječenje inzulinom može uzrokovati i disfunkciju endotela, dovodeći do stvaranja lezija bogatih lipidima u arterijama. Rane masne pruge se razvijaju u plakove zbog proupalnog djelovanja makrofaga, koji postaju pjenaste stanice. Ovaj proces je vođen aktivnošću lipoprotein lipaze endotela i makrofaga. *In vivo*, više razine inzulina pojačavaju aktivnost lipoprotein lipaze u makrofagima, iako inzulin ne stimulira izravno izolirane makrofage (Kolb i sur., 2020).

Premda postoji linearna veza između ozbiljnosti hiperglikemije i vaskularnog oštećenja, intenzivna kontrola glikemije ne smanjuje rizik od kardiovaskularnih događaja te čak može povećati rizik od istih. Epidemiološke studije na pacijentima s DM2 dosljedno pokazuju višu stopu kardiovaskularnih događaja s dodatkom inzulina ili intenziviranjem terapije inzulinom, a

rizik raste s većim dozama inzulina. No, pitanje je koliko sam inzulin povećava rizik od kardiovaskularnih događaja, a koliko su one posljedica kompliciranog loše kontroliranog DM2. Bez obzira na to što postoji mogućnost da terapija inzulinom ne smanjuje rizik od kardiovaskularnih bolesti, koristi od kontrole glukoze su značajne i stoga nose prevagu pri zadržavanju inzulina u terapiji (Home i Itzhak, 2020; Kolb i sur., 2020).

Značajan postotak *bodybuildera* redovito zlorabi kombinacije hormona koje uključuju inzulin, GH i AAS. Pozitivan učinak *bodybuildinga* na HDL-kolesterol poništava zlouporaba hormona koja kod *bodybuildera* dovodi do nižih razina HDL-kolesterola u usporedbi s *bodybuilderima* koji ne koriste doping i zdravim pojedincima. *Bodybuilderi* koji zlorabe inzulin imaju i više razine C-reaktivnog proteina, jasnog znaka upalnog procesa. Osim toga, do povećanog metaboličkog rizika dolazi promjenom aktivnosti enzima uključenih u metabolizam masnih kiselina (Girolamo i sur., 2018). Ove promjene mogu dovesti do ozbiljnih kardiovaskularnih problema, poput srčanih i moždanih udara. Dok se neki štetni učinci mogu povući nakon prestanka korištenja inzulina, mnogi mogu uzrokovati trajna i po život opasna oštećenja (Mantri i sur., 2023).

#### Hipokalemija

Inzulin regulira ravnotežu natrija i kalija uzrokujući transport  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  aktiviranih ATP-aza na membranu stranica. Postprandijalno, endogeno otpuštanje inzulina dovodi do povećanog ulaska kalija u stranice preko  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  transportera, dovodeći do smanjenja razine kalija u plazmi. To stvara problem u slučaju primjene egzogenog inzulina, što može rezultirati grčevjem mišića, paralizom disanja, ventrikularnim aritmijama, pa čak i smrću (Petrosino, 2019; Anderson i sur., 2018).

#### Tumori

Terapija inzulinom općenito se smatra sigurnom, bez značajnih problema koji bi kontraindicirali njegovu uporabu. Međutim, inzulin potiče rast stanica zbog afiniteta za IGF-1 receptor (Beals i sur., 2019). Inzulin vezanjem za IGF-1 receptor posjeduje aktivnost faktora rasta, no afiniteti su takvi da ta aktivnost fiziološki ne bi trebala biti značajna. Specifični problem s B10-Asp inzulinskim analogom uočen u eksperimentu na štakorima, koji ima dvostruko već IGF-1 aktivnost u usporedbi s ljudskim inzulinom, je njegova značajno veća mitotička aktivnost i veza s tumorima dojke. Ovaj problem pripisuje se produženom vezanju za IGF-1 receptor i posljedičnim pokretanjem alternativnih signalizacijskih putova u odnosu na

fiziološki učinak samog IGF-1. Ovaj rizik se ne odnosi niti na jedan od inzulinskih analoga koji se koriste u kliničkoj praksi. Zloupotreba inzulina u kombinaciji s IGF-I mogla bi potencijalno povećati rizik od karcinoma, jer već postoji pozitivna korelacija između cirkulirajućeg IGF-I i incidencije raka prostate i kolorektalnog karcinoma kod ljudi (Birzniece, 2015). Stoga ovakva kombinirana primjena, u terapijske i izvanterapijske svrhe, zahtijeva stalno praćenje i daljnja istraživanja rizika kako bi se na vrijeme prepoznali mogući štetni učinci istovremen primjene.

### Razvoj dijabetesa

Kada *bodybuilderi* koriste inzulin u dozama koje su veće i od terapijskih, mozak šalje poruku gušterači da nema potrebe za otpuštanjem endogenog inzulina jer je hiperglikemija „pod kontrolom“. Postupno, stanice gube osjetljivost na inzulin te se razvija inzulinska rezistencija, što pogoduje propadanju  $\beta$ -stanice gušterače koje prestaju proizvoditi inzulin. Daljnjim patofiziološki procesima dolazi do rizika od razvoja dijabetesa ( Mantri i sur., 2023; Ghorbani i Hashtrodi, 2016).

### Infekcije

Nepravilna uporaba i nesigurne prakse sa špricama i iglama mogu dovesti do raznih zdravstvenih rizika, uključujući infekcije kože, apscese i prijenos virusa poput hepatitisa B, hepatitisa C i HIV-a. Istraživanja sugeriraju da su muškarci koji primjenjuju stvari u svrhu povećanja sportskih izvedbi (PED) izloženi većem riziku od zaraze virusima koji se prenose krvlju u usporedbi s općom populacijom. Hepatitis C se prvenstveno prenosi kontaktom krv-na-krv, često putem zajedničke opreme za ubrizgavanje. Međutim, može se prenijeti i kroz male količine krvi na tijelu, osobito na rukama. Određene prakse povezane s ubrizgavanjem PED-ova, poput korištenja igala velikog promjera za intramuskularno ubrizgavanje, ponovne uporabe igala i opreme te dijeljenja kroz višedozne bočice i spremnike, mogu povećati rizik od prijenosa virusa.

Rutinski postupci korisnika PED-ova uključuju pripremu opreme na način koji osigurava zadržavanje sterilnosti, zamjenu igala za uzimanje doze i ubrizgavanje, čišćenje mjesta injiciranja i aspiraciju (povlačenje klipa štrcaljke prije ubrizgavanja kako bi se osiguralo da vrh igle nije probušio krvnu žilu). Međutim, manje se pažnje posvećuje krvi koja ostaje nakon ubrizgavanja i pranju ruku. Pranje ruku nakon ubrizgavanja ključno je za sprječavanje prijenosa virusa koji se prenose krvlju, ali korisnici veću pažnju usmjeravaju čišćenju površina prije ubrizgavanja nego poslije. Prema jednom istraživanju, praksa dijeljenja igala među korisnicima PED-ova je rijetka, iako je pokazano da je međusobno davanje inzulina nije neuobičajeno.

Mogući putovi prijenosa koji proizlaze iz istraživanja uključuju trljanje mjesta ubrizgavanja nakon ubrizgavanja, izostanak pranja ruku nakon ubrizgavanja te grupno i međusobno ubrizgavanje (Fomiatti i sur., 2020; Anderson i sur., 2018).

## 5.2 Budućnost inzulina

### 5.2.1 Nove generacije inzulinskih formulacija

Najveći problem supkutane inzulinske primjene nisu same injekcije jer su nekadašnje nezgrapne šprice zamijenjene modernim penovima. Problem je učestalost primjene, koja predstavlja preko pet injekcija dnevno, te konstantna mjerenja glukoze uz procjene doza uz svako jelo. To ne rezultira samo fizičkim, već i psihičkim naporom stalnog podsjećanja na zdravstveno stanje te društvene neugodnosti. Zato se u razvoju novih generacija inzulinskih formulacija ide u smjeru povećanja razmaka između pojedinih doza, specifičnijeg djelovanja inzulina s manje nuspojava i većom učinkovitošću.

#### *Duže djelovanje*

Klinička neodlučnost u započinjanju ili intenziviranju terapije inzulinom često je vođena zabrinutostima pacijenata vezanim uz strah od igle, bolne injekcije i neugodnosti povezane s ubrizgavanjem inzulina u javnosti. Ove prepreke mogu dovesti do neadherencije, propuštenih doza i loše glikemijske kontrole. Kako bi se barem djelomično riješili ovi problemi, razvijeni su dugodjelujući inzulini kojima se smanjuje broj injiciranja i smanjuju farmakokinetičke fluktuacije, što dovodi do manje hipoglikemijskih epizoda i poboljšane glikemijske kontrole (Heise, 2021). Inzulini glargin U300 i degludek su primjeri ovakvih formulacija koji su već dostupni na tržištu (Cernea i Raz, 2020).

Kod DM1, doziranje uz obroke obavezno je 2 - 4 puta dnevno, što čini manje korisnim prelazak na tjedno ili rjeđe bazalno doziranje. Međutim, kod DM2, gdje je bazalni inzulin često početna inzulinska terapija, tjedno doziranje moglo bi smanjiti učestalost doziranja za 85 %. Dulji poluzivot inzulina dovodi do manjih fluktuacija između vršnih i najmanjih koncentracija, što može smanjiti hipoglikemiju i poboljšati glikemijsku kontrolu. Međutim, to također znači da je potrebno dulje vrijeme za postizanje stabilnog stanja nakon početka ili promjene doze (Heise, 2021; Home i Mehta, 2021). Prve kliničke studije pokazale su da je doziranje inzulina jednom tjedno izvedivo i sigurno za osobe s DM2 koje uzimaju oralne lijekove i/ili bazalni inzulin. Stope klinički značajne hipoglikemije nisu bile veće nego kod dnevnog doziranja inzulina, a



trajanje hipoglikemijskih događaja bilo je slično (Heise, 2021). No mogući problem terapije inzulinom jednom tjedno predstavljaju iznenadne promjene u konzumaciji hrane, npr. zbog bolesti, zbog čega je potrebna pažljiva i temeljita procjena rizika od hipoglikemije (Jarosinski i sur., 2022).

Inzulin ikodek predstavlja bazalni inzulin koji zahtjeva primjenu jednom tjedno. Smatra se sigurnim, dobro podnošljivim i pokazuje farmakološka svojstva za tjedno doziranje kod pacijenata s DM2 (Mathieu i sur., 2021). To je analog inzulina koji ima tri supstitucije aminokiselina (glutamat na A14 umjesto tirozina te histidini na B16 i B25 umjesto tirozina, odnosno fenilalanina) i bočni lanac C20 masne dikiseline povezane hidrofilnom vezom na lizinski B29 ostatak. Njegov ultradugi farmakokinetički profil omogućen je jačanjem vezanja za albumin (zaslužan bočni lanac) i slabljenjem vezanja za inzulinske receptore (supstitucije na B lancu), uz smanjenu enzimatsku razgradnju, odgađajući klirens posredovan inzulinskim receptorom. Vezanje za albumin je reverzibilno i jednom dok se inzulin otpusti s proteina plazme, veže se za inzulinski receptor i ima jednako metaboličko djelovanje kao i humani inzulin (Jarosinski i sur., 2022; Heise, 2021). Ikodek postiže maksimalnu koncentraciju za 16 sati prvog dana i ima poluživot od 196 sati. Iako brzo postiže klinički stabilno stanje, pokazuje veće fluktuacije u metaboličkom djelovanju tijekom tjedna. Ovo ograničava njegovu uporabu kod DM1, ali ga čini pogodnim za terapiju DM2 u kojem slučaju endogena sekrecija inzulina može ublažiti razlike u snižavanju glukoze (Jarosinski i sur., 2022; Heise, 2021; Home i Mehta, 2021). U usporedbi s glarginom, ikodek pokazuje približno jednaku sposobnost snižavanja HbA1c vrijednosti. Oba inzulina su imala dobru toleranciju te nisu pokazala nikakve sigurnosne probleme (Heise, 2021).

Bazalni inzulin Fc (BIF) je fuzija inzulina s Fc regijom humanog imunoglobulina G, a kako bi se oslabilo vezanje za receptore, B lanac posjeduje iste aminokiselinske supstitucije kao i ikodek. Svaki monomer ovog homodimera čini varijanta B lanca povezana kratkim linkerom (Linker 1) s A lancem koji se pak drugim linkerom (Linker 2) veže na Fc domenu IgG-a (Moyers i sur., 2022). Ova fuzija produžuje plazmatski poluživot inzulina jer fuzijom na Fc IgG-a koristi isti put recikliranja koji omogućava dugi poluvijek endogenom IgG-u. Kad IgG uđe u stanicu procesom mikropinocitoze, Fc regija se veže na neonatalni Fc receptor (FcRn). u kiselim endovezikulama. Recikliranjem endosoma, FcRn-IgG kompleks se vraća na površinu stanice i fiziološki pH ekstracelularnog okruženja omogućava otpuštanje IgG-a. Veza ova dva peptida je stoga pH ovisna, tj. u cirkulaciji, koja predstavlja neutralni pH, veza je slaba, no kada

se nađe u kiselom okruženju unutarstaničnih vezikula, zaštićena je od degradacije te omogućuje recikliranje sastavnica. Kod pacijenata s DM2, BIF je pokazao poluživot od 17 dana i gotovo ravni farmakokinetičkofarmakodinamički profil uz doziranje jednom tjedno (Jarosinski i sur., 2022; Rosenstock i Del Prato, 2022; Heise, 2021). U stanju ravnoteže, BIF je pokazao male promjene u sposobnosti snižavanja glukoze tijekom jednog tjedna, ali je zahtijevao udarnu dozu koja bi brzo postigla ravnotežno stanje. Međutim, kliničke studije faze 1 i 2 nisu pokazale razliku u HbA1c u usporedbi s degludekom. Unatoč sličnim stopama hipoglikemije, dogodile su se dvije teške (treći stupanj) reakcije s novim inzulinom te su istraživanja još u tijeku (Home i Mehta, 2021).

#### *Brži početak djelovanja*

Uvođenje ekscipijenasa radi ubrzavanja apsorpcije iz potkožnog tkiva dovelo je do razvoja novih brzodjelujućih analoga inzulina. Ove formulacije imaju za cilj što bolje oponašati fiziološku sekreciju inzulina tijekom obroka postizanjem bržeg početka i završetka djelovanja (Mathieu i sur., 2021). Novi inzulini djeluju brže od tradicionalnih brzodjelujućih analoga, omogućujući doziranje na početku ili čak tijekom obroka kako bi se bolje kontrolirali postprandijalni skokovi glukoze (Hirsch i sur., 2020). Ova poboljšanja su posebno važna za sustave umjetne gušterače u razvoju, koji se sastoje od vanjske pumpe za inzulin kojom upravlja algoritam koji koristi podatke kontinuiranog mjerenja glukoze za automatsko prilagođavanje isporuke inzulina radi optimalne kontrole razine glukoze u krvi (Beals i sur., 2019). Uvođenje aktivnih ekscipijenasa koji poboljšavaju brzinu disocijacije heksamera ili povećavaju protok krvi na mjestu injekcije, olakšava bržu apsorpciju inzulina omogućavajući učinkovitiju kontrolu glukoze (Jarosinski i sur., 2022).

Fiasp (engl. *faster insulin aspart*, odnosno brži inzulin aspart), prvi je ultrabrzi inzulin iz 2017. godine, sadrži L-arginin kao stabilizator i niacinamid (vitamin B3) za poboljšanje apsorpcije (Mathieu i sur., 2021). Fiasp sadrži jednu promijenjenu aminokiselinu u odnosu na regularni humani inzulin, što omogućuje brže disocijacije inzulinskih heksamera u dimere i monomere, ubrzavajući apsorpciju iz potkožnog depoa. Niacinamid dodatno pomiče ravnotežu prema monomerima te služi kao vazodilatator, povećavajući lokalni protok krvi. Injekcija Fiaspa preporučuje se na početku obroka ili unutar 20 minuta nakon početka obroka (Hirsch i sur., 2020). Studija faze 3 na pacijentima s DM1 uspoređivala je Fiasp primijenjen prije i 20 minuta nakon obroka te standardni aspart primijenjen preprandijalno. Studija je pokazala

neinferiornost Fiaspa za doziranje tijekom obroka i nakon obroka s nešto češćom ranom postprandijalnom hipoglikemijom u usporedbi s usporednom grupom. Fiasp ima 5 minuta raniji početak djelovanja, 74 % veći rani učinak snižavanja glukoze unutar prvih pola sata nakon injekcije i 14 minuta raniji završetak djelovanja. Kod osoba s DM1, ovi učinci rezultiraju smanjenjem HbA1c za 0,08 % i poboljšanom kontrolom postprandijalne glukoze s manje kasnih hipoglikemijskih događaja u usporedbi s aspartom (Mathieu i sur., 2021; Wilson i Castle, 2020). U studiji faze 3 na osobama s DM2, koje su na početku bile na bazalnom inzulinu, dodavanje Fiaspa bilo je neinferiorno u pogledu promjene HbA1c u usporedbi s aspartom. Ova studija je također pokazala poboljšanu kontrolu postprandijalne glukoze jedan sat nakon obroka uz slične stope hipoglikemije. U ovim kliničkim ispitivanjima nuspojave s Fiaspom bile su slične drugim brzodjelujućim inzulinima, s nešto više blagih reakcija na mjestu injekcije i nešto češćom postprandijalnom hipoglikemijom u usporedbi s usporednom grupom, iako su ukupne stope hipoglikemije bile slične (Wilson i Castle, 2020).

Ultrabrzi lispro (URLi), drugi ultrabrzodjelujući inzulin, predstavlja insulin lispro u formulaciji s dodacima za povećanje apsorpcije - citratom za povećanjem lokalne vaskularne propusnosti i treprostiniolom za povećanje lokalne vazodilatacije. Ova formulacija uspoređena je s originalnim inzulinom lispro i drugim brzodjelujućim analogima, uključujući Fiasp. URLi ima brži početak djelovanja, dosežući polovinu maksimalne koncentracije 13 minuta nakon injekcije - 6 minuta ranije od Fiaspa i 11 minuta brže od lispro inzulina. Također postiže veće smanjenje postprandijalne glukoze 2 sata nakon obroka u usporedbi s Fiaspom. Povećanje koncentracije ultrabrog lispro inzulina na U200 ne mijenjaju farmakokinetičke i farmakodinamičke profile, što omogućuje zamjenjivost lispro formulacija (Mathieu i sur., 2021; Katzung i Vanderah, 2020). Dvostruko slijepa, 26-tjedna studija, koja je uključivala 1222 odrasle osobe s DM2, procijenila je učinkovitost i sigurnost URLi u usporedbi s klasičnim lispro inzulinom. Studija nije pokazala inferiornost u promjenama HbA1c i nije otkrila značajne razlike u stopama ozbiljne hipoglikemije. Ultrabrzi lispro također je pokazao niže stope hipoglikemije više od 4 sata nakon obroka i superiornu kontrolu postprandijalne glukoze 1 i 2 sata nakon obroka. Nisu zabilježene razlike u lokalnoj podnošljivosti s ovim inzulinom (Wilson i Castle, 2020). Iako ultrabrzi lispro nudi nekoliko prednosti u odnosu na druge brzodjelujuće inzuline, uključujući brži početak djelovanja i veće smanjenje postprandijalnih razina glukoze, dodana vrijednost korištenja ove formulacije u kliničkoj praksi tek treba biti u potpunosti dokazana.

BioChaperone Lispro (BCLIS) je ultrabrzodjelujući inzulin koji koristi BioChaperone tehnologiju (oligosaharidna molekula BioChaperone BC222 kao noviji ekscipijens) za poboljšanje apsorpcije, bioraspoloživosti i djelovanja inzulina. Ova tehnologija formira kompleks s inzulinom lispro, štiteći ga od enzimske degradacije, istovremeno pružajući stabilizirajuće i solubilizirajuće učinke. Kod pacijenata s DM1, BCLIS je smanjio skokove u vrijednostima glukoze 1 i 2 sata nakon jela za 30 – 40 % u usporedbi s lispro inzulinom. Također je pokazao brži početak i završetak djelovanja u usporedbi s aspartom i Fiaspom (Cernea i Raz, 2020; Wilson i Castle, 2020). BioChaperone Lispro dostupan je u U100 i U200 formulacijama, pri čemu je potonja razvijena za pacijente s visokim potrebama za inzulinom. Tehnologija također podržava razvoj mješovitih pripravaka s bazalnim inzulinima ili drugim klinički aktivnim peptidima (pr. pramlinitidom). (Home i Mehta, 2021; Cernea i Raz, 2020).

*Inzulini koji odgovaraju na potrebe ovisno o glukozi (smart insulins; glucose-responsive insulins)*

Inzulini koji se oslobađaju i djeluju ovisno o glukozi imaju za cilj automatsko održavanje razine glukoze u krvi unutar ciljanog raspona od 4 do 10 mmol/L, izbjegavajući hipoglikemiju, a bez potrebe za složenim titriranjem doze.

Osnovne komponente ovih sustava su: uređaj za isporuku inzulina i senzor za glukozu, jedinica koja u interakciji s glukozom prolazi kroz kemijske/fizikalne modifikacije kako bi oslobodila inzulin kada razina glukoze u krvi prijeđe ciljani raspon i ponovno se veže za inzulin kada se razina glukoze normalizira (Heise, 2021; Cernea i Raz, 2020).

Takav injektabilni zatvoreni sustav mogao bi pomoći pacijentima da postignu zadovoljavajuću glikemijsku kontrolu dugoročno smanjujući mikro- i makrovaskularne komplikacije. Idealni GRI zamijenio bi potrebe za prandijalnim i bazalnim inzulinom (Heise, 2021).

GRI se mogu klasificirati kao:

1. Sustavi bazirani na polimerima: inzulin je enkapsuliran u glukozno-odgovarajućim polimernim vezikulama/hidrogelu, oslobađajući inzulin zbog bubrenja ili raspadanja nakon vezanja glukoze. U normoglikemijskim ili hipoglikemijskim uvjetima, polimeri ostaju nepropusni. Pod hiperglikemijom, strukturne promjene u polimerima omogućuju oslobađanje inzulina (Cernea i Raz, 2020).
2. Intrinzični GRI: modificirana molekula inzulina koja na sebe ima vezanu glukozno-osjetljivu jedinicu koja omogućuje glukozno-ovisnu aktivnost (Jarosinski i sur., 2022; Heise, 2021; Cernea i Raz, 2020).

Tri su klase sustava GRI baziranih na polimerima (Cernea i Raz, 2020; Wilson i Castle, 2020:

1. Prvi GRI sustav temelji se na proteinima koji vežu glukozu, poput lektina i konkanavalina A (ConA), koji stvaraju kompleks s glikoziliranim inzulinom jer vežu saharide visokim afinitetom i specifičnošću. Danas se više ne razvijaju zbog problema imunogenosti i mitogeneze;
2. Glukoza-oksidaza (GOx) katalizira oksidaciju glukoze u glukonsku kiselinu uz otpuštanje vodikova peroksida, snižavajući time pH okoline i pokrećući oslobađanje inzulina. Ista se ovakva reakcija događa i u glukometrima koji kontinuirano mjere glukozu. Međutim, ovaj pristup može uzrokovati imunološke reakcije na strani enzima, lokalnu toksičnost zbog  $H_2O_2$  i degradaciju enzima);
3. Fenilboronska kiselina (PBA) stvara reverzibilne veze s glukozom i ostalim molekulama koje sadrže diole u strukturi, stvarajući hidrogel koji u okruženju povećane koncentracije glukoze bubri i otpušta više inzulina. Problem PBA je njezina nespecifičnost u vezanju za diole, ali i visoka  $pK_a$  vrijednost zbog koje PBA nije aktivna pri fiziološkom pH i zahtjeva modifikacije kako bi se približila željenom pH.

Inovacije polimernih matriksa uključuju vezikule dvojne osjetljivosti, npr.  $H_2O_2$  (nusprodukt GOx)/hipoksija ili pH/ $H_2O_2$  kako bi se poboljšala osjetljivost na promjene vrijednosti glukoze u krvi. Iz istog se razloga kombiniraju GOx i PBA u istom matriksu jer  $H_2O_2$  dovodi do kidanja veza u PBA. Ovi matriksi temeljeni na aktiviranju više mehanizama istovremeno su razvijeni i kako bi se probali riješiti glavni problemi GRI sustava, a to su stabilnost i suboptimalna brzina odgovora, tj. usporeno otpuštanje inzulina u hiperglikemijskim uvjetima i ograničeno smanjenje otpuštanja u hipoglikemiji (Cernea i Raz, 2020).

Drugi pristup GRI je modifikacija same molekule inzulina. MK-2640 je molekula inzulina koja je glikozilirana kako bi se omogućilo vezanje za manozne receptore C tipa 1 (MRC1), ovisno o koncentraciji glukoze pri čemu je zadržana inzulinska aktivnost. U teoriji, pri visokim razinama glukoze, manje se inzulina veže za MRC1 i tako uklanja, jer se glukoza natječe s inzulinom za vezanje na MRC1. U stanju hipoglikemije, većina se inzulina uklanja te rezultira manjom signalizacijom preko inzulinskih receptora. U praksi, testiranje na ljudima nije pokazalo promjene u uklanjanju inzulina ovisno o glukozu, ali su vidjeli povećanje odlaganja glukoze, što ukazuje na povećani farmakodinamički učinak pri višim koncentracijama glukoze. Međutim, razvoj MK-2640 napušten je zbog nedovoljne učinkovitosti (Jarosinski i sur., 2022; Wilson i Castle, 2020).

Razvoj pametnih inzulina je usmjeren ili na zamjenu prandijalnog ili bazalnog inzulina. Zamjena prandijalnog inzulina je primamljivija i potrebija, ali i teža zbog početne fiziološke reakcije koju pokreću inkretini i refleksi povezani s obrokom, a ne glukoza čiji utjecaj se osjeti tek nakon 30 – 45 min. Regulacija bazalnog inzulina praćenjem koncentracije glukoze je jednostavnija i ključna za izbjegavanje noćne hipoglikemije i održavanje normalnih razina prije obroka (Home i Mehta, 2021). Unatoč prednostima GRI-a, nekoliko izazova ostaje: nedovoljni profili oslobađanja inzulina, odgođena reakcija, propuštanje inzulina, biokompatibilnost i nakupljanje materijala nosača (Wilson i Castle, 2020). Uski ciljni raspon razine glukoze u krvi i potreba za visokim afinitetom i selektivnošću (naspram npr. fruktoze ili laktoze) jedinice za vezanje glukoze su značajne prepreke u razvoju GRI. Brza aktivacija i inaktivacija inzulina su ključne za izbjegavanje hipoglikemije i hiperglikemije. Postizanje brzog oslobađanja i vezanja inzulina iz GRI-depoa, posebno u potkožnom tkivu, predstavlja dodatne teškoće. „Pametni“ inzulini suočavaju se sa značajnim izazovima zbog individualnih varijacija u osjetljivosti na inzulin pod utjecajem tjelesne aktivnosti, stresa i unosa kalorija. Unatoč ovim izazovima, GRI tehnologiji i dalje se razvija (Heise, 2021; Home i Mehta, 2021).

#### *Organospecifični inzulini*

U fiziološkim uvjetima endogeni inzulin izlučuje se iz  $\beta$ -stanica gušterače u portalnu cirkulaciju, stvarajući omjer inzulina od 3:1 između jetre i perifernih tkiva. Ovaj omjer nije moguće postići sa egzogenim inzulinom, što ukazuje na značajan nedostatak ovog načina primjene. Posljedično, egzogeni inzulin ima slabiji učinak na proizvodnju glukoze u jetri i unos glukoze u jetru, u usporedbi s endogenim inzulinom, što dovodi do suboptimalne inhibicije jetrene glukoneogeneze. Ovo može uzrokovati prekomjernu izloženost perifernih tkiva inzulinu, povećavajući rizik od inzulinske rezistencije, prekomjernog perifernog unosa glukoze, hipoglikemije i povećanja tjelesne težine (Jarosinski i sur., 2022; Heise, 2021; Wilson i Castle, 2020). Inzulini koji preferiraju jetru, kao što je NNC0123-0327, nastoje prevladati perifernu prekomjernu izloženost inzulinu. Ovaj analog inzulina, s C20 masnom dikiselinom pričvršćenom na položaju A22K, ima visoki afinitet za albumin u serumu, što može smanjiti transendotelni transport u periferiju i povećati eliminaciju inzulina posredovanu jetrenim receptorom. Međutim, sigurnosni problemi, posebno u vezi s jetrenom steatozom i hipoglikemijom, moraju biti riješeni prije nego što se nastavi s daljnjim istraživanjima (Mathieu i sur., 2021).

Jetreno usmjeren inzulin lispro je supkutano dostavljena formulacija koja koristi hepatocit-usmjeravajući motiv, biotin-fosfatidiletanolamin u fosfolipidnoj matrici, koji veže približno 100 molekula inzulina. Ova formulacija nastoji dostaviti dio ubrizganog inzulina u jetru ciljanjem biotinskih receptora na hepatocitima (Heise, 2021). 26-tjedno randomizirano, dvostruko slijepo ispitivanje pokazalo je neinferiornost u snižavanju HbA1c, bez sigurnosnih problema za jetru i bez razlike u ukupnim stopama hipoglikemije u usporedbi sa standardnim inzulinom lispro kod pacijenata s DM1 (Wilson i Castle, 2020).

Bazalni inzulin peglispro, PEGilirani bazalni inzulin, pokazao je brzi supresivni učinak na produkciju glukoze u jetri i odgođeni učinak na periferni unos glukoze zbog veličine koja inhibira permeabilnost u periferiju, dok fenestracije u hepatskom sinusoidnom endotelu omogućuju prolaz molekula visoke molekulske mase u jetreno tkivo. Unatoč značajnom smanjenju glikemije, noćne hipoglikemije i tjelesne težine, razvoj BIL-a zaustavljen je zbog povećane masnoće jetre, povišenih koncentracija triglicerida u serumu, češćih povišenja jetrenih enzima (ALT) i veće učestalosti reakcija na mjestu injekcije kao što je lipohipertrofija (Lewellyn, 2017).

Inzulinska signalizacija u mozgu sudjeluje u regulaciji unosa hrane, klasificirajući inzulin kao neuroendokrini hormon koji djeluje u amigdali i hipotalamusu. Periferna primjena inzulina detemira povećava moždanu signalizaciju i može smanjiti unos hrane te ublažiti povećanje tjelesne težine u usporedbi s neacetiliranim analogima. Specifično ciljanje moždanih inzulinskih receptora relevantno je i u liječenju Alzheimerove bolesti.

Inzulinska signalizacija u masnom tkivu regulira skladištenje lipida i ukupnu homeostazu glukoze. Novi razgranati esteri masnih kiselina hidroksilnih masnih kiselina pokazali su antidijabetičke i protuupalne učinke; njihov nedostatak može dovesti do intolerancije na glukozu. Iako je inzulinom inducirana adipostaza nepoželjna, inzulini usmjereni na adipocite mogli bi paradoksalno smanjiti inzulinsku rezistenciju (Jarosinski i sur., 2022).

## 5.2.2 Nove metode dostave inzulina

### *Noviji uređaji za supkutanu primjenu*

Pametni penovi, poput InPena, povezuju se s pacijentovim pametnim telefonom putem Bluetootha kako bi se olakšao izračunu potrebnih doza, i omogućile druge pogodnosti, poput podsjetnika, praćenja i upozorenja na temperaturu. Ovi sustavi pomažu pratiti injekcije,

osiguravajući točnu i pravovremenu primjenu (Cernea i Raz, 2020; Katzung i Vanderah, 2020). Mlazni injektori za inzulin nude alternativu bez igle za potkožnu isporuku inzulina. Koriste visokotlačni mehanizam za ravnomjerno raspršivanje inzulina kroz kožu, što rezultira bržim početkom djelovanja i poboljšanom kontrolom postprandijalne glukoze. No, imaju nedostatke, poput zahtjevnog održavanja i mogućnosti stvaranja modrica ako tlak nije pravilno podešen (Cernea i Raz, 2020).

Inzulinske pumpe su mali uređaji koji uključuju spremnik za inzulin, programski čip, tipkovnicu i zaslon. Nošeni izvana, veličine su otprilike kao pametni telefon i kontinuirano isporučuju kratkodjelujući inzulin tijekom dana i noći. Pacijenti mogu programirati ove pumpe da ispuštaju određene količine inzulina (do 300 jedinica) u periodičnim intervalima. Uređaj se obično nosi u džepu s cijevi umetnutom potkožno, najčešće u abdomen, iako se mogu koristiti i druga mjesta poput bedra. Kako bi pumpa pravilno radila, nužno je pravilno održavanje i upotreba. Spremnik, cijevi i setove za infuziju treba mijenjati svaka 2 - 3 dana u sterilnom okruženju. Pumpa se može privremeno odspojiti uklanjanjem katetera, koji spaja inzulinski rezervoar i supkutanu kanilu, za aktivnosti poput kupanja. Sigurnosne značajke uključuju alarme za nisku razinu baterije, podsjetnike za provjeru postprandijalne glukoze, upozorenja za promjenu mjesta infuzije i nadopunu spremnika za inzulin. Također upozorava na moguća začepjenja u sustavu za infuziju ili bilo kakve mehaničke poteškoće u radu pumpe. Postoji funkcija automatskog isključivanja koja sprječava isporuku inzulina ako se pumpa ne koristi dulje vrijeme. Velika prednost je što uređaj sam izračunava ispravnu dozu inzulina ovisno o količini konzumiranih ugljikohidrata i trenutnim razinama glukoze u krvi. Pumpa obično sama upravlja isporukom bazalnog inzulina tijekom dana koja se može prilagoditi prema potrebi, dok se doze bolus inzulina izračunavaju na temelju unosa ugljikohidrata (Katzung i Vanderah, 2020; Jacob i sur., 2018). Sve tri formulacije brzodjelujućih inzulina imaju odobrenje za uporabu u inzulinskim pumpama te pokazuju poboljšanu kontrolu glikemije i smanjenu postprandijalnu hiperglikemiju s manje hipoglikemijskih događaja. Ultrabrzo djelovanje bi poboljšalo algoritme kontrole pumpi temeljenih na kontinuiranom praćenju glukoze kako bi se povećalo vrijeme glikemije unutar ciljanih vrijednosti. Više metoda ubrzavanja djelovanja je prošlo testiranja, poput uporabe zagrijanih jastučića na mjestu uboda kako bi se povećao protok krvi, koadministracija hijaluronidaze za razgradnju vezivnog tkiva, mlazni injektori, ali nijedna nije klinički prihvaćena (Jarosinski i sur., 2022). Moguće komplikacije uključuju ketoacidozu zbog prekida isporuke inzulina i infekcije kože, a kao nedostatak se navode i visoki troškovi te dodatno vrijeme potrebno za edukaciju i početak terapije. Idealna je opcija za djecu s DM1



zbog njihovih niskih bazalnih doza inzulina. Uporaba pumpe kod mladih odraslih, adolescenata i djece posebno pomaže u glikemijskoj kontroli s dokazanim manjim rizikom hipoglikemije i dijabetičke ketoacidoze. Studije pokazuju i umjerena poboljšanja u razinama HbA1C u usporedbi s višestrukim dnevnim injekcijama (Jacob i sur., 2018). Glavna prednost pumpi je bolja individualizacija bazalnog inzulina, koja onda rezultira boljom kontrolom glukoze tijekom noći, između obroka i za vrijeme fizičkih aktivnosti (Katzung i Vanderah, 2020).

Omnipod je jednokratna, vodootporna elektronička flaster-pumpa koja kombinira spremnik za inzulin (dostavlja inzulin do 72 sata) i set za infuziju u jednu jedinicu, bez potrebe za kateterom. Sustav se postavlja na kožu i isporučuje bazalni te bolusni inzulin supkutano na temelju bežičnih uputa od „osobnog digitalnog asistenta“. Asistent pomaže u izračunu bolusne doze na temelju vrijednosti glukoze u krvi i unesenih ugljikohidrata te prati vrijeme proteklo od posljednjeg bolusa inzulina. Na taj način sprječava mogućnost hipoglikemije uzrokovane pogrešnim doziranjem. Studije koje su uključivale pacijente s DM1 i DM2 pokazuju značajna poboljšanja HbA1c, s manje prijavljenih epizoda hipoglikemije (Cernea i Raz, 2020).

V-Go, mehanička flaster pumpa, dizajnirana je specifično za osobe s DM2 na režimu bazalnog/bolusnog inzulina. Pričvršćuje se na kožu ljepljivom trakom i isporučuje fiksnu bazalnu i bolusne doze inzulina. Prednamještena je za isporuku jedne od tri bazalne brzine (20, 30 ili 40 jedinica) tijekom 24 sata, nakon čega se mora zamijeniti. Za bolusne potrebe, pritiskom gumba na uređaju isporučuju se dvije jedinice za pokrivanje potrebe za inzulinom tijekom obroka (Cernea i Raz, 2020; Katzung i Vanderah, 2020).

### *Alternative supkutanoj primjeni*

#### ***Oralni inzulin***

Oralni inzulin nudi nekoliko potencijalnih prednosti osim same eliminacije potrebe za injekcijama. Oralni inzulin uzet s hranom može bolje uskladiti isporuku inzulina s apsorpcijom hranjivih tvari, oponašajući prirodni proces te se poput endogenog inzulina isporučuje izravno u jetru kroz portalnu venu. To pruža fiziološki učinak na proizvodnju glukoze u jetri, u usporedbi s potkožnim inzulinom koji prije jetre dopijeva u periferna tkiva (Heise, 2021; Home i Mehta, 2021; Cernea i Raz, 2020). Brz početak i kratko djelovanje su posebno korisni za pokrivanje potrebe za inzulinom tijekom obroka, potencijalno omogućujući čak i uzimanje nakon obroka. No, dok hrana ne bi imala utjecaj na bazalni oralni inzulin koji se može odvojiti od jela nekoliko sati, njezin utjecaj na bolusni inzulin je vidljiv jer se apsorpcija značajno

manjuje ako se uzima uz obrok. To u konačnici dovodi do paradoksa u kojem veći vremenski razmak između obroka i oralnog inzulina osigurava bolju apsorpciju, a istovremeno i veći rizik rane hipoglikemije (zbog jakog početnog djelovanja inzulina prije nego je uopće krenula apsorpcija glukoze) te kasne postprandijalne hiperglikemije (zbog smanjenja koncentracije inzulina dok apsorpcija glukoze raste) (Heise, 2021). Primijenjen na ovaj način, inzulin se suočava s opsežnom kemijskom (niski pH želuca) i enzimskom degradacijom u gastrointestinalnom traktu, kao i bilo koja proteinska terapija. Njegova molekularna veličina i hidrofилna priroda dodatno kompliciraju apsorpciju kroz crijevnu sluznicu. Istražene su različite metode za zaštitu inzulina u crijevima i poboljšanje apsorpcije, poput dodataka pojačivača permeacije (soli žučnih kiselina ili derivati, masne kiseline) ili inhibitora proteaza, zatim enkapsulacije pomoću nanočestica, hidrogelova i liposoma (Mathieu i sur., 2021; Cernea i Raz, 2020).

Neke formulacije oralnog inzulina došle su do faze 2 kliničkih ispitivanja s obećavajućim rezultatima. Oralni inzulin 338 je dugodjelujući bazalni inzulinski analog formuliran u tableti s natrijevim kapratom ( $C_{10}H_{19}CO_2Na$ ) kao pojačivačem apsorpcije. Pokazao je neinferiornost u odnosu na inzulin glargin u pogledu kontrole glikemije bez sigurnosnih rizika u pacijenata s DM2 (Mathieu i sur., 2021; Halberg i sur., 2019). Cilj je bio smanjiti utjecaj hrane na apsorpciju i varijabilnost oralnog inzulina. Međutim, njegova niska bioraspoloživost (<2 %) zahtijevala je primjenu doza čak do 58 puta većih od supkutanog glargina. To je dovelo do prekida razvoja oralnog oblika zbog visokih troškova proizvodnje.

ORMD-0801, obložena kapsula s adjuvansima koji štite inzulin od degradacije u GIT-u i potiču apsorpciju, pokazuje slabiju apsorpciju te mjerljive, no slabe učinke na kontrolu glikemije, s blagim smanjenjima ukupnih i noćnih razina glukoze u DM1 i DM2 te bazalnih doza u DM1, u odnosu na placebo. U razvoju je i inzulin Tregopil (IN-105). To je ultrabrzi inzulinski analog s bočnim lancem polietilenglikola na poziciji B29 i natrijevim kapratom kao pojačivačem apsorpcije (Heise, 2021). Pokazuje brzu apsorpciju (unutar 20 min) i brzo izlučivanje (90 minuta), što ga čini potencijalno pogodnim za kontrolu postprandijalne glukoze uz činjenicu da sastav obroka nema značajan utjecaj na apsorpciju. U ispitivanjima na pacijentima s DM1 i DM2 formulacija pokazuje postprandijalnu glikemijsku kontrolu koja je učinkovitija od placeba za vrijeme cijelog obroka, no u odnosu na supkutani inzulin aspart, postprandijalna kontrola je manje učinkovita, najviše u periodu odmah nakon jela. Pokazuje dobar sigurnosni profil s niskom incidencijom klinički značajne hipoglikemije (Joshi i sur., 2023; Cernea i Raz, 2020).

Napredak u terapiji oralnim inzulinom uvelike ovisi o poboljšanju njegove bioraspoloživosti. Novi pristup uključuje oralnu kapsulu *Luminal Unfolding Microneedle Injector* (LUMI). Ova kapsula ima polimerni oklop koji omogućava preživljavanje u kiseloj okolini želuca, a jednom dok stigne u tanko crijevo, kapsula puca zbog povišenog pH i otpušta sustav s mikroiglicama. Mikroiglice napunjene inzulinom prodiru izravno kroz mukozu tankog crijeva te otpuštaju inzulin. Potrebne su buduće studije za procjenu potencijalnih rizika poput perforacije crijeva i opstrukcije, ali i problema niske biodostupnosti (10 % ili manje), malog dozirnog kapaciteta (300 – 700 µg po kapsuli) i podnošljivosti (Zhang i Shang, 2021; Wilson i Castle, 2020).

Dok oralni inzulin obećava praktičniji i fiziološki prikladniji način kontrole hiperglikemije, značajni izazovi i dalje postoje. Kontinuirano istraživanje i inovacije ključni su za prevladavanje ovih prepreka i dolazak učinkovitih terapija oralnim inzulinom na tržište.

### ***Inhalacijski inzulin***

Plućni sustav nudi nekoliko anatomskih i fizioloških prednosti za isporuku lijekova: velika alveolarna površina i kapilarna mreža, tanka alveolarno-kapilarna barijera te odsutnost mukocilijarnog klirensa i određenih peptidaza.

Exubera™ je bila prvi sustav za primjenu inzulina inhalacijom na tržištu. Pružao je usporedivu metaboličku kontrolu (HbA1c, glukoza natašte i postprandijalno) s potkožnim režimima primjene. No povučena je zbog česćih hipoglikemija, kao i respiratornih nuspojava te nespretnosti primjene (veličina uređaja i uz to vezani problemi) (Cernea i Raz, 2020).

Odobren od strane FDA 2014. godine, Afrezza™ (Technosphere inzulin) je formulacija regularnog humanog inzulina u obliku suhog praha adsorbiranog na Technosphere mikročestice. Technosphere koristi kristale fumaril diketopiperazina veličine 2 - 2,5 µm koji nude veliku površinu za adsorpciju inzulina. Ove mikročestice dopijevaju duboku u pluća gdje brzo ulaze u krvotok (Katzung i Vanderah, 2020; Wilson i Castle, 2020). Inhalira se na početku obroka u dozi od jedne inhalacije po patroni. Dostupna je u jednokratnim patronama označenim bojama koje isporučuju 4, 8 ili 12 jedinica inzulina (Katzung i Vanderah, 2020; Jacob i sur., 2018). Afrezza ima brz početak djelovanja, s porastom razina inzulina već u prvih 5 min, te brzo doseže vrhunac (unutar 12 - 15 minuta, brže od bilo kojeg supkutanog inzulina) te, u usporedbi s humanim ili brzodjelujućim analogima, ima kraće djelovanje (~2,7 sati), uz manji

rizik od kasne hipoglikemije (Hirsch i sur., 2020; Katzung i Vanderah, 2020; Beals i sur., 2019). Nije zamjena za dugodjelujući inzulin i ne preporuča se kod dijabetičke ketoacidoze. Ne preporučuje se djeci mlađoj od 18 godina te je kontraindicirana kod pušača i pacijenata s kroničnim plućnim bolestima (Katzung i Vanderah, 2020; Jacob i sur., 2018). Uobičajena nuspojava je kašalj koji se javlja kod 27 % pacijenata. Mali pad plućne funkcije (FEV1) uočen je tijekom prva tri mjeseca, koji se nastavio tijekom naredne dvije godine, a čak su zabilježena dva slučaja raka pluća. Stoga se preporučuju testovi plućne funkcije prije početka terapije, nakon šest mjeseci i svake godine nakon toga (Katzung i Vanderah, 2020; Wilson i Castle, 2020). Ukupna učinkovitost kontrole glikemije bila je nešto niža u usporedbi s potkožnim inzulinom, no Afrezza predstavlja formulaciju s manjim rizikom od teške hipoglikemije i povećanja tjelesne težine te jednakom učinkovitošću u snižavanju HbA1c. Afrezza se tako preporuča dijabetičarima bez plućnih oboljenja čije stanje zahtjeva inzulinsku terapiju, ali koji nisu u mogućnosti ili ne žele koristiti supkutanu terapiju te u slučaju potrebe za brzim kontroliranjem hiperglikemije (Cernea i Raz, 2020; Wilson i Castle, 2020).

Dance 501 je nova tekuća formulacija humanog inzulina primjenjiva preko malog ručnog aerosolnog uređaj za inhalaciju. Spreman je za fazu 3 ispitivanja. Relativna biopotentnost u usporedbi s potkožnim brzodjelujućim inzulinom iznosi 13 %. Pokazao je brz početak djelovanja (6,5 minuta u usporedbi s 20 minuta za lispro inzulin) u kliničkim ispitivanjima na pacijentima s DM2 i DM1 (Wilson i Castle, 2020).

Plućni put za isporuku inzulina ima značajan potencijal zbog brze apsorpcije i jednostavne uporabe. Technosphere inzulin (Afrezza™) i nadolazeća rješenja poput Dance 501 nude održive alternative za pacijente koji imaju poteškoća s potkožnim injekcijama inzulina.. Kontinuirana istraživanja i razvoj imaju za cilj optimizirati ove sustave, pružajući učinkovitije i praktičnije opcije za kontrolu dijabetesa.

### ***Bukalni inzulin***

Sluznica usne šupljine predstavlja privlačnu alternativu za isporuku inzulina zbog nekoliko prednosti: lako dostupna i jednostavna primjena terapije, velika i dobro prokrvljena površina koja povećava učinkovitost apsorpcije s minimalnom proteolitičkom aktivnošću i brzim oporavkom nakon ozljede.

Oralin je bukalni inzulinski pripravak formuliran kao otopina s raznim pojačivačima za olakšavanje apsorpcije kroz sluznicu. Primjenjuje se pomoću inhalatora s odmjerenom dozom

(engl. *metered dose inhaler*, MDI). Kliničke studije provedene na zdravim ispitanicima i pacijentima s DM1 i DM2 pokazale su obećavajuće rezultate. Oral-lyn predstavlja još jednu tekuću bukalnu formulaciju koja sadrži humani rekombinantni inzulin i pojačivače apsorpcije. Ispitivan je na zdravim ispitanicima i pacijentima s DM1, pokazujući kraće vrijeme do postizanja vršne koncentracije inzulina (~25 minuta) u usporedbi sa supkutanim regularnim inzulinom, brži početak djelovanja i brže izlučivanje. Trenutno je u fazi 3 kliničkih ispitivanja. MidaForm Insulin PharmFilm je bukalna formulacija inzulina koja koristi rekombinantni humani inzulin ugrađen u polimerni mukoadhezivni film. Ispitana je u kliničkim studijama faze 1/2. Unatoč niskoj biorasploživosti, formulacija pokazuje potencijal za daljnju optimizaciju i razvoj.

Bukalni put isporuke inzulina nudi nekoliko prednosti, uključujući dostupnost i učinkovitu apsorpciju, čineći ga obećavajućom alternativom tradicionalnim metodama. Iako proizvodi poput Oralina i Oral-lyna pokazuju potencijal, izazovi poput niske biorasploživosti ostaju. Istraživanja novih, inovativnih formulacija za optimizaciju isporuke bukalnog inzulina za bolje kliničke ishode su i dalje u tijeku (Cernea i Raz, 2020; Beals i sur., 2019).

### ***Nazalni inzulin***

Nazalni put je još jedna istražena alternativa za isporuku inzulina zbog velike, vaskularizirane apsorpcijske površine i lakoće primjene terapije. Unatoč svojim prednostima, nazalni put ima i nekoliko prepreka poput aktivnog uklanjanja tvari iz nosne šupljine u obliku mukocilijarnog čišćenja, enzimske razgradnje zbog prisutnosti proteolitičkih enzima koji razgrađuju te niske propusnosti za velike molekule poput inzulina. Kako bi se prevladali ovi izazovi, korištene su razne strategije. Kemijske modifikacije inzulina - PEGilacija ili glikozilacija za povećanje stabilnosti i apsorpcije, uvođenje inhibitora enzima i pojačivača apsorpcije (kitozan i derivati, želatina, ciklodekstrini i derivati, i dr.) u formulaciju te razvoj inovativnih nosača, kao što su liposomi, mikrosfere, mikročestice/nanočestice, mikrogelovi/nanogelovi, mikroemulzije itd. Studije na životinjama nekih formulacija pokazale su značajno smanjenje koncentracije glukoze u krvi (40 % - 50 %) bez vidljive toksičnosti, no ipak su potrebna daljnja istraživanja. Intranazalni sprej koji sadrži rekombinantni humani inzulin, Nasulin, pokazao je brzu apsorpciju i brz početak djelovanja, dosegnuvši vrhunac za otprilike 40 minuta, čineći ga pogodnim za prandijalnu uporabu. Unatoč potencijalu, Nasulin je povučen iz daljnjih istraživanja (Cernea i Raz, 2020).

### ***Transdermalni inzulin***

Koža nudi veliku i dostupnu površinu za apsorpciju, ali predstavlja izazove poput niske propusnosti i potencijalne iritacije ili alergijskih reakcija. Kako bi se riješili ovi problemi, koriste se kemijski pojačivači konvencionalne molekule i membransko-propusni peptidi/nosači za poboljšanje apsorpcije, električki potpomognuti mehanizmi poput iontoforeze i elektroporacije, metode poput sonoforeze i mlaznih injektora koji predstavljaju mehanički potaknute mehanizme te isporuke uz pomoć mikroiglica (engl. *microneedles*, MN), novije tehnologije sa značajnim potencijalom za budući razvoj.

Čvrste mikroiglice probijaju kožu kako bi formirale mikrokanale za isporuku inzulina. Šuplje mikroiglice dostavljaju inzulin kroz unutrašnjost iglica te se mogu kombinirati s električki kontroliranim dispenzerima. Obje su vrste pokazale povećanu apsorpciju i učinke snižavanja glukoze u životinjskim modelima. Šuplje mikroiglice su nedavno testirane na pacijentima s DM2, pokazujući superioran farmakokinetički profil u usporedbi s potkožnim inzulinom (kraći  $T_{max}$ , veća rana i niža kasna izloženost). Topljive i razgradive mikroiglice su uglavnom izrađene od topljivih polimera koji enkapsuliraju inzulin. Potpuno se otapaju nakon umetanja u kožu kako bi oslobodile lijek (otapajuće MN) ili postupno oslobađaju inzulin za produženu isporuku pasivnom difuzijom (razgradive MN). Obje vrste pokazale su učinke snižavanja glukoze u krvi kod miševa. Bioresponzivne mikroiglice predstavljaju napredni tehnologiju sposobnu za reagiranje na fiziološke signale (poput razine glukoze) za isporuku inzulina po potrebi. Obećavaju u prekliničkim studijama zbog sposobnosti preciznog oslobađanja inzulina kada je to potrebno (Cernea i Raz, 2020).

## 6 ZAKLJUČCI

- Inzulin već 100 godina predstavlja temelj terapije dijabetesa. Proteinski je hormon fiziološki prisutan u ljudskom organizmu, a sintetiziraju ga i otpuštaju  $\beta$ -stanice gušterače ovisno o vrijednostima glukoze u krvi. Metabolizam glukoze je njegova ključna funkcija. Inzulinski se receptori nalaze na membranama gotovo svih stanica te nedostatak inzulina dovodi do hiperglikemije, s brojnim zdravstvenim posljedicama. Osim nedostatnog lučenja inzulina, javlja se i neosjetljivost receptora na inzulin, što uz hipertenziju i pretilost sve češće dovodi do metaboličkog sindroma.
- Originalno životinjskog porijekla, inzulinska je terapija u prošlosti zbog brojnih alergijskih reakcija i čestih potreba za supkutanim injekcijama bila znatno neugodnija i nepraktičnija nego danas. Inzulin se danas dobiva pomoću DNA rekombinantne tehnologije kako bi se razvili inzulinski analozi, koji pokušavaju što bliže oponašati bazalno-bolusni profil sekrecije inzulina u fiziološkim uvjetima. Tri dugodjelujuća inzulinska analoga (glargin, detemir, degludek) osiguravaju bazalnu koncentraciju inzulina, dok brzodjelujući analozi (lispro, glulizin, aspart) kontroliraju postprandijalnu hiperglikemiju.
- Inzulin je svoje mjesto našao i na Popisu zabranjenih supstanci u sportu Svjetske antidopinške agencije, i to tijekom i izvan sportskih natjecanja. To ne sprječava njegovu uporabu u izvanterapijske (nemedicinske) svrhe za poboljšanje izgleda muskulature i izvedbe *bodybuildera*. Kako bi se naglasilo njegovo anaboličko djelovanje, uglavnom se primjenjuje s drugim supstancama s anaboličkim svojstvima, kao što su hormon rasta, inzulinu-sličan faktor rasta i androgeni-anabolički steroidi. Nemedicinska uporaba inzulina može uzrokovati ozbiljne zdravstvene posljedice te se javlja potreba bolje kontrole dostupnosti i neracionalne uporabe kako kod profesionalnih, tako i kod rekreativnih sportaša.
- Iako učestalost zlouporabe inzulina nije tako velika, ona ipak dobiva na zamahu u svijetu, pronalazeći svoje korisnike i u Hrvatskoj, što su pokazali i rezultati provedenog anketnog istraživanja na uzorku *bodybuildera* u sklopu ovog rada. Glavni razlog

uporabe je poboljšanje fizičkog izgleda i postizanje boljih rezultata na natjecanjima, , no zabrinjava nepoznavanje nuspojava i rizika primjene.

- Razvoj ultradugodjelujućih inzulina započeo je razvojem koncentriranijih verzija već postojećih analoga, ali i razvojem novih formulacija s trajanjem djelovanja od čak tjedan dana, dok bi ultrabrze formulacije trebale omogućiti primjenu inzulina za vrijeme jela. Modifikacije inzulinske molekule bi mogle povećati organspecifičnost djelovanja inzulina što bi smanjilo dio nuspojava, ali i otvorilo vrata za nove indikacije.
- Glavni razlog neadherencije pacijenata na inzulinskoj terapiji je način primjene, tj. svakodnevne supkutane injekcije. Kao odgovor na taj problem, razvijaju se noviji uređaji za supkutanu primjenu koji su praktičniji, poput inzulinske pumpe, tzv. sustavi umjetne gušterače, vanjske pumpe za inzulin kojom upravlja algoritam koji koristi podatke kontinuiranog mjerenja glukoze za automatsko prilagođavanje isporuke inzulina. Kako bi se u potpunosti zamijenila supkutana primjena, ispituju se i alternativni putevi. Nažalost, zbog proteinske strukture inzulina, nijedna alternativa se još nije pokazala kao dostojna zamjena. Ali, istraživanja u svrhu daljnjeg razvoja ne staju te je budućnost inzulina svijetla.
- Zbog sve veće učestalosti uporabe inzulina, bilo u terapijske ili izvanterapijske svrhe, uloga farmaceuta, ali i svih medicinskih djelatnika, je da na ispravan način educiraju pacijente i opće stanovništvo o djelovanju i opasnostima koje inzulin sa sobom nosi. Fokus uvijek treba biti na osiguravanju sigurne i učinkovite terapije te na sprječavanju mogućih nuspojava te kroničnih posljedica neispravne primjene inzulina.



## 7 POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA

AAS - anaboličko-androgeni steroidi

Akt - protein kinaza B

BIF - bazalni inzulin Fc

BIL - bazalni inzulin peglispro

cGMP - ciklički gvanozin monofosfat

DKA - dijabetička ketoacidoza

DM - dijabetes melitus

ER - endoplazmatski retikulum

FDA - Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)

GH - hormon rasta (engl. *growth hormon*)

GLP-1 - (engl. *glucagon-like peptide-1*)

GRI - glukozno-odgovarajući inzulin (engl. *glucose-responsive insulin*)

GUK - glukoza u krvi

HbA1c - glikozilirani hemoglobin

HSA - humani serumski albumin

IDE - enzim za razgradnju inzulina (engl. *insulin-degrading enzyme*)

IGF-I - inzulinu-slični faktor rasta-I (engl. *insulin-like growth factor*)

IOC - Međunarodni olimpijski odbor (engl. *International Olympic Committee*)

IR - inzulinski receptor

IRS - supstrat inzulinskog receptora

MAPK - mitogenom-aktivirana protein kinaza

NPH - Neutralni Protamin Hagedorn

PDK1 - 3-fosfoinozitol-ovisna protein kinaza-1

PED – supstance koje povećavaju izvedbu (engl. *performans-enhancing drugs*)

PI3K - fosfatidilinozitol-3-kinaza

PIP2 - fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat

PIP3 - fosfatidilinozitol-(3,4,5)-trifosfat

SC - supkutana primjena

SP - signalni peptid

TUE - Terapijsko izuzeće (engl. *therapeutic exemption*)

URLi - Ultrabrzi lispro inzulin

WADA - Svjetska antidopinška agencija (engl. *World Antidoping Agency*)

## 8 LITERATURA

Alam U, Asghar O, Azmi S, Malik RA. General aspects of diabetes mellitus. *Handb Clin Neurol*, 2014, 126, 211-222.

Anderson, LJ, Tamayose JM, Garcia JM. Use of growth hormone, IGF-I, and insulin for anabolic purpose: Pharmacological basis, methods of detection, and adverse effects. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 464, 65-74.

Baza lijekova | Lijekovi .: HALMED, <https://www.halmed.hr/Lijekovi/Baza-lijekova/>, pristupljeno 25. 6. 2024.

Beals JM, DeFelippis MR, Paavola CD, Allen DP, Garg A, Bruce Baldwin D. Insulin. U: *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*. Crommelin D, Sindelar R, Meibohm B, urednici, Cham, Springer, 2019, str. 403–427.

Benni JM., Patil PA. Non-diabetic clinical applications of insulin. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2016, 27(5), 445-456.

Bird SR., Goebel C, Burke LM., Greaves RF. Doping in sport and exercise: anabolic, ergogenic, health and clinical issues. *Ann Clin Biochem*, 2016, 53(2), 196-221.

Birzniece V. Doping in sport: effects, harm and misconceptions. *Intern Med J*, 2015, 45(3), 239-248.

Bonnecaze AK, O'Connor T, Burns CA. Harm Reduction in Male Patients Actively Using Anabolic Androgenic Steroids (AAS) and Performance-Enhancing Drugs (PEDs): a Review. *J Gen Intern Med*, 2021, 36(7), 2055-2064.

Bosy-Westphal A, Hägele F, Nas A. Impact of dietary glycemic challenge on fuel partitioning. *Eur J Clin Nutr*, 2017, 71(3), 327-330.

Cernea S, Raz I. Insulin Therapy: Future Perspectives. *Am J Ther*, 2020, 27(1), e121-e132.

Ferry B, DeCastro A, Bragg S. Common Prescription Medications Used in Athletes. *Prim Care*, 2020, 47(1), 49-64.

Fink J, Schoenfeld BJ, Nakazato K. The role of hormones in muscle hypertrophy. *Phys Sportsmed*, 2018, 46(1), 129–134.

Fomiatti R, Lenton E, Latham JR, Fraser S, Moore D, Seear K, Aitken C. Maintaining the healthy body: Blood management and hepatitis C prevention among men who inject performance and image-enhancing drugs. *Int J Drug Policy*, 2020, 75, 102592.

Ghorbani M, Hashtrudi R. Insulin Hormone Effects On Ft&St Muscles Of Body Bulding Athlets And Diabetic People Type. *IntJSCS*, 2016, 2(1), 826-835.

Girolamo FGD, Fiotti N, Mazzucco S, Simunic B, Pisot R, Biolo G. Metabolic risk associated with hormonal doping and insulin abuse in recreational bodybuilders. *Clin Nutr*, 2018, 37, S184.

Gülfirat Ö. Commonly used performance-enhancing substances in sports. *EJPESS*, 2019, 5(8), 12-19.

Haerinejad MJ, Ostovar A, Farzaneh MR, Keshavarz M. The Prevalence and Characteristics of Performance-Enhancing Drug Use Among Bodybuilding Athletes in the South of Iran, Bushehr. *Asian J Sports Med*, 2016, 7(3), e35018.

Halberg IB, Lyby K, Wassermann K, Heise T, Zijlstra E, Plum-Mörschel L. Efficacy and safety of oral basal insulin versus subcutaneous insulin glargine in type 2 diabetes: a randomised, double-blind, phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(3), 179-188.

Heidet M, Abdel Wahab A, Ebadi V, Cogne Y, Chollet-Xemard C, Khellaf M. Severe Hypoglycemia Due to Cryptic Insulin Use in a Bodybuilder. *J Emerg Med*, 2019, 56(3), 279-281.

Heise T. The future of insulin therapy. *Diabete Res Clin Pract*, 2021, 175, 108820.

Hirsch IB, Juneja R, Beals JM, Antalis CJ, Wright EEJ. The Evolution of Insulin and How it Informs Therapy and Treatment Choices. *Endocr Rev*, 2020, 41(5), 733-755.

Holt RIG, Sönksen PH. Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport. *Br J Pharmacol*, 2009, 154(3), 542-556.

Home P, Itzhak B. Is Insulin Therapy Safe?. *Am J Ther*, 2020, 27(1), e106-e114.

Home PD, Mehta R. Insulin therapy development beyond 100 years. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9(10), 695-707.

Ibanez SD, Kersey RD, Brown LE, Tsang KK. Non-Therapeutic Insulin Use in Resistance-Trained Men. *J Athl Enhancement*, 2014, 3(3), 1-5.

Insulin for Bodybuilders: Effects, Uses, and Risks, 2021., <https://www.healthline.com/nutrition/insulin-for-bodybuilders>, pristupljeno 25. 6. 2024.

Is Insulin for Bodybuilding & Muscle Growth a Good Idea?, 2022., <https://4allfamily.com/blogs/diabetes/insulin-for-bodybuilding>, pristupljeno 25. 6. 2024.

Is it true that professional bodybuilders follow a bulking and cutting cycle?, 2024., <https://shorturl.at/s7d9r>, pristupljeno 25. 6. 2024.

Jacob S, Morsy MA, Nair A. An Overview on the Insulin Preparations and Devices. *Indian J Pharm Educ Res*, 2018, 52(4), 550-557.

Jarosinski MA, Chen YS, Varas N, Dhayalan B, Chatterjee D, Weiss MA. New Horizons: Next-Generation Insulin Analogues: Structural Principles and Clinical Goals. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 107(4), 909-928.

Joshi S, Jayanth V, Loganathan S, Sambandamurthy VK, Athalye SN. Insulin Tregopil: An Ultra-Fast Oral Recombinant Human Insulin Analog: Preclinical and Clinical Development in Diabetes Mellitus. *Drugs*, 2023, 83(13), 1161-1178.

Katzung BG, Vanderah TW. Basic and Clinical Pharmacology. New York, Chicago, San Francisco, McGraw Hill Medical, 2020, str. 1328.

Kerner W, Brückel J. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2014, 122(7), 384-386.

Kolb H, Kempf K, Röhling M, Martin S. Insulin: too much of a good thing is bad. *BMC Med*, 2020, 18(1), 224.

Llewellyn W. Anabolics. Jupiter, Molecular Nutrition LLC, 2017, str. 832.

Mantri S, Agarwal S, Jaiswal A, Yelne S, Prasad R, Wanjari MB. Bodybuilding: A Comprehensive Review of Performance-Enhancing Substance Use and Public Health Implications. *Cureus*, 2023, 15(7), e41600.

Mao R, Chen Y, Chi Z, Wang Y. Insulin and its single-chain analogue. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2019, 103(21-22), 8737-8751.

Mathieu C, Martens PJ, Vangoitsenhoven R. One hundred years of insulin therapy. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(12), 715-725.

Montuori P, Loperto I, Paolo C, Castrianni D, Nubi R, De Rosa E, Palladino R, Triassi M. Bodybuilding, dietary supplements and hormones use: behaviour and determinant analysis in young bodybuilders. *BMC Sports Sci Med Rehabil*, 2021, 13(1), 147.

Mottram DR, Chester N. Drugs in Sport. Oxon, New York, Routledge, 2018, str. 430.

- Moyers JS, Hansen RJ, Day JW, Dickinson CD, Zhang C, Ruan X, Ding L, Brown RM, Baker VHE, Beals JM. Preclinical Characterization of LY3209590, a Novel Weekly Basal Insulin Fc-Fusion Protein. *J Pharmacol Exp Ther*, 2022, 382(3), 346-355.
- Parent MC, Heffernan C, Woznicki N, Taylor Z. Competition or Community? The Backstage Experience of Men in Bodybuilding Competitions. *Sex Roles*, 2022, 87(1-2), 68-84.
- Petrović I, Petrović S, Vujanac K, Petrović M, Lazić Z. Clinical presentation of the abuse of insulin: Hypoglycaemic coma and aspiration pneumonia in non-professional bodybuilders. *Serb J Exp Clin Res*, 2015, 16 (4), 347-351.
- Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ, Pang M. Role of Insulin in Health and Disease: An Update. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12), 6403.
- Rosenstock J, Del Prato S. Basal weekly insulins: the way of the future!. *Metabolism*, 2022, 126, 154924.
- The Good and The Bad About Insulin, 2019., <https://www.elitefts.com/education/the-good-and-the-bad-about-insulin/>, pristupljeno 25. 6. 2024.
- The Prohibited List, <https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list> pristupljeno 25. 6. 2024.
- Thevis M. Sports Drug Testing. U: Karch's Drug Abuse Handbook. Karch SB, Goldberger BA, urednici, Boca Raton, Taylor & Francis, 2022, str. 367–435.
- Tokarz VL, MacDonald PE, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *J Cell Biol*, 2018, 217(7), 2273-2289.
- Turner A. Routledge handbook of strength and conditioning: sport-specific programming for high performance. Oxon, New York, Routledge, 2018, str. 668.
- Vaidya RA, Desai S, Moitra P, Salis S, Agashe S, Battalwar R, Mehta A, Madan J, Kalita S, Udipi SA, Vaidya AB. Hyperinsulinemia: an early biomarker of metabolic dysfunction. *Front Clin Diabetes Healthc*, 2023, 4, 1159664.
- White MF, Kahn CR. Insulin action at a molecular level – 100 years of progress. *Mol Metab*, 2021, 52, 101304.
- Wilson LM, Castle JR. Recent Advances in Insulin Therapy. *Diabetes Technol Ther*, 2020, 22(12), 929-936.
- Yaribeygi H, Farrokhi FR, Butler AE, Sahebkar A. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6), 8152-8161.

Zhang Z, Shang L. Smart ingestible devices: Orally delivering macromolecules and beyond. *Matter*, 2021, 4(11), 3379-3381.

## SAŽETAK

Inzulin je fiziološki hormon nezamjenjive uloge u metabolizmu ugljikohidrata. Njegov nedostatak zbog djelomičnog ili potpunog izostanka lučenja iz pankreasa predstavlja rastući zdravstveni problem koji je karakteriziran hiperglikemijom i smanjenom osjetljivošću receptora na perifernim tkivima na inzulin tkiva. U nadomještanju inzulina u u zadnjih 100 godina koriste se inzulinski pripravci. Nakon inzulina životinjskog porijekla, danas su u primjeni inzulinski analozi dobiveni DNA rekombinantnom tehnologijom i modificirani kako bi djelovali brzo i kratko ili dugotrajno.

Razvoj inzulina kao lijeka i dalje traje. Razvijaju se nove i bolje formulacije već postojećih inzulinskih analoga, primjena se pojednostavljuje te se i dalje ulaže u pronalazak alternativa supkutanoj injekciji koja većini pacijenata predstavlja najveći nedostatak i izvor neugodnosti. Zbog svojih poznatih anaboličkih svojstava inzulin se zlorabi i kao doping sredstvo. Takva je praksa najčešća u *bodybuildingu*, najčešće u kombinaciji s drugim sredstvima za poboljšanje mišićne mase, izgleda i ukupne sportske izvedbe. Međutim, pritom se zanemaruju zdravstveni rizici te dugoročne posljedice primjene inzulina u nemedicinske svrhe i bez kontrole zdravstvenih djelatnika.

## **SUMMARY**

Insulin is a physiological hormone with an indispensable role in carbohydrate metabolism. Its deficiency, due to partial or complete lack of secretion from the pancreas, represents a growing health problem characterized by hyperglycemia and reduced sensitivity of receptors in peripheral tissues to insulin. Insulin preparations have been used for insulin replacement over the past 100 years. Following animal-derived insulin, today, insulin analogs obtained through recombinant DNA technology and modified to act quickly and short-term or long-term are in use.

The development of insulin as a drug continues. New and improved formulations of existing insulin analogs are being developed, administration is being simplified, and efforts are ongoing to find alternatives to subcutaneous injection, which is the biggest drawback and source of discomfort for most patients.

Due to its well-known anabolic properties, insulin is also abused as a doping agent. This practice is most common in bodybuilding, often in combination with other agents to enhance muscle mass, appearance, and overall athletic performance. However, this neglects the health risks and long-term consequences of using insulin for non-medical purposes and without medical supervision.



## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za farmakologiju  
Ulica kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### *Farmakološka svojstva inzulina i zlouporaba u sportu*

Lana Varga

#### SAŽETAK

Inzulin je fiziološki hormon nezamjenjive uloge u metabolizmu ugljikohidrata. Njegov nedostatak zbog djelomičnog ili potpunog izostanka lučenja iz pankreasa predstavlja rastući zdravstveni problem koji je karakteriziran hiperglikemijom i smanjenom osjetljivošću receptora na perifernim tkivima na inzulin tkiva. U nadomještanju inzulina u u zadnjih 100 godina koriste se inzulinski pripravci. Nakon inzulina životinjskog porijekla, danas su u primjeni inzulinski analozi dobiveni DNA rekombinantnom tehnologijom i modificirani kako bi djelovali brzo i kratko ili dugotrajno. Razvoj inzulina kao lijeka i dalje traje. Razvijaju se nove i bolje formulacije već postojećih inzulinskih analoga, primjena se pojednostavljuje te se i dalje ulaže u pronalazak alternativa supkutanoj injekciji koja većini pacijenata predstavlja najveći nedostatak i izvor neugodnosti. Zbog svojih poznatih anaboličkih svojstava inzulin se zlorabi i kao doping sredstvo. Takva je praksa najčešća u *bodybuildingu*, najčešće u kombinaciji s drugim sredstvima za poboljšanje mišićne mase, izgleda i ukupne sportske izvedbe. Međutim, pritom se zanemaruju zdravstveni rizici te dugoročne posljedice primjene inzulina u nemedicinske svrhe i bez kontrole zdravstvenih djelatnika.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 84 stranice, 21 grafički prikaz, 1 tablica i 55 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Inzulin, *bodybuilding*, dijabetes

Mentor: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Lidija Bach-Rojecky**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Anita Hafner**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2024.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmacology  
Ulica kneza Domagoja 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### *Pharmacological properties of insulin and abuse in sports*

**Lana Varga**

#### **SUMMARY**

Insulin is a physiological hormone with an indispensable role in carbohydrate metabolism. Its deficiency, due to partial or complete lack of secretion from the pancreas, represents a growing health problem characterized by hyperglycemia and reduced sensitivity of receptors in peripheral tissues to insulin. Insulin preparations have been used for insulin replacement over the past 100 years. Following animal-derived insulin, today, insulin analogs obtained through recombinant DNA technology and modified to act quickly and short-term or long-term are in use.

The development of insulin as a drug continues. New and improved formulations of existing insulin analogs are being developed, administration is being simplified, and efforts are ongoing to find alternatives to subcutaneous injection, which is the biggest drawback and source of discomfort for most patients.

Due to its well-known anabolic properties, insulin is also abused as a doping agent. This practice is most common in bodybuilding, often in combination with other agents to enhance muscle mass, appearance, and overall athletic performance. However, this neglects the health risks and long-term consequences of using insulin for non-medical purposes and without medical supervision.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 84 pages, 21 figures, 1 tables and 55 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Insulin, bodybuilding, diabetes

Mentor: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Lidija Bach-Rojecky, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Anita Hafner, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

**Maja Ortner Hadžiabdić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2024.