

# Geneesmiddelenbulletin

Redactie-adres: Postbus 5811, 2280 HV Rijswijk (ZH), telefoon 070-949505 toestel 218  
Abonnementen: Postbus 439, 2260 AK Leidschendam, telefoon 070-209260 toestel 2319/2348

Jaargang 19, nr 2

16 februari 1985

## HUMANE INSULINE\*

Het is alweer bijna twee jaar geleden dat de eerste preparaten met humane insuline in Nederland werden geïntroduceerd. Inmiddels is het aantal beschikbare preparaten nog met enkele toegenomen en heeft de literatuur over de humane insulinen een respectabele omvang gekregen. De bedoeling van dit artikel is een overzicht te geven van de thans in ons land verkrijgbare preparaten en te trachten een tussentijdse balans op te maken ten aanzien van de mogelijke therapeutische voordelen van humane insuline boven de overwegend toegepaste runder- en varkensinsulinen.

### PREPARATEN

Reeds geruime tijd kon men voor experimentele doeleinden regelmatig beschikken over uiterst kleine hoeveelheden humane insuline. Deze werd - volgens de beproefde procedure - geëxtraheerd uit bij obductie verkregen pancreassen. Een dergelijke kleine hoeveelheid stelde in 1960 Nicol & Smith in staat de structuur van humane insuline op te helderen (fig. 1).

Direct nadat de aminozuursequentie van humane insuline was vastgesteld werden pogingen ondernomen het hormoon te synthetiseren. In 1974 gelukte het een volledige synthese van de 51 samenstellende aminozuren uit te voeren. Deze totale synthese, die bijna 200 reacties omvat, is echter bijzonder kostbaar en komt voor de productie van humane insuline op grote schaal niet in aanmerking. Wel kon een kleine hoeveelheid worden vervaardigd, die de Zwitserse onderzoeker Teuscher in de gelegenheid stelde tot het doen van enkele kortdurende klinische proeven.<sup>1</sup>

Pas omstreeks 1979 gelukte het humane insuline op grotere schaal te produceren. Vrijwel gelijktijdig waren hiervoor twee verschillende methoden, te weten een semisynthetische en een biosynthetische, ontwikkeld.

De *semisynthetische* methode gaat uit van varkensinsuline, dat slechts op één plaats in het molecuul van humane insuline verschilt, namelijk op de plaats B-30. Varkensinsuline heeft op deze plaats het aminozuur alanine, humane insuline het aminozuur threonine. Met behulp van een enzymatische transpeptidase-reactie gelukte het varkensinsuline voor bijna 100% om te zetten in humane insuline, door op B-30 het aminozuur alanine voor het aminozuur threonine te verwisselen<sup>2</sup> (zie fig. 2).

De volgens deze methode geproduceerde humane insuline wordt vervolgens aan de reeds vele jaren in gebruik zijnde zuiveringsprocedure onderworpen, hetgeen resulteert in de humane 'monocomponent' (MC), 'single peak', of 'rare immunogen' (RI) insuline. Deze aanduidingen hebben betrekking op de mate van zuiverheid van de preparaten: slechts een uiterst geringe hoeveelheid pro-insuline is toelaatbaar.

Over de eigenschappen en klinische toepassing van deze insuline is inmiddels een aantal publicaties verschenen.<sup>3 4</sup> Momenteel wordt de semisynthetische humane monocomponent (HM)-insuline in een drietal preparaten in de handel gebracht, te weten de kort werkende Insuline Actrapid® HM, de verlengd werkende zinkinsuline Insuline Monotard® HM en de verlengd werkende isofane Insuline Protaphane® HM, alle van Novo.

Nordisk heeft korte tijd geleden ook de volgende semisynthetische humane insulinepreparaten op

de markt gebracht, de kort werkende Insuline Velosulin Humaan®, de verlengd werkende isofane Insuline Insulatard Humaan®, alsmede Insuline Mixtard Humaan® en Insuline Initard Humaan®, beide mengsels van 30% respectievelijk 50% kort werkende insuline en 70% respectievelijk 50% isofane insuline.

Een *biosynthetische* methode werd in de Verenigde Staten ontwikkeld via DNA-recombinatie. Volgens deze methode worden *E. coli*-bacteriën aangezet tot de productie van hetzij de A-keten, hetzij de B-keten van humane insuline, door de daarvoor verantwoordelijke genen in de bacteriecel te implanteren. Daartoe worden de chemische gesynthetiseerde genen ingelast in plasmide-DNA, dat vervolgens in de bacteriecel wordt ingebracht (dit plasmide-DNA is tevens verantwoordelijk voor de biosynthese van tryptofaan). Vervolgens worden de afzonderlijk geproduceerde A- en B-ketens chemisch met elkaar verbonden<sup>3-6</sup> (zie fig. 3).

Momenteel wordt deze insuline in enkele preparaten op de markt gebracht, te weten de kort werkende Humuline Regular Lilly® en de verlengd werkende isofane Humuline NPH Lilly®, terwijl tevens een mengsel van 20% kort werkende en 80% isofane insuline verkrijgbaar is: Humuline 20/80 Lilly®.

#### THERAPEUTISCHE ASPECTEN

Op grond van de talrijke onderzoeken kan nu wel met zekerheid worden gesteld, dat de semi-biosynthetische humane insuline in hun biologische activiteit en binding aan receptoren van de celmembranen niet verschillen van varkensinsuline.<sup>3</sup>

Ook in farmacokinetische eigenschappen konden vrijwel geen verschillen met varkensinsuline worden aangetoond. Wel vonden enkele onderzoekers dat na subcutane injectie de kort werkende preparaten met humane insuline wat sneller worden geresorbeerd dan kort werkende preparaten met varkensinsuline.<sup>7</sup> Dit verschil in resorptiesnelheid zou onder meer kunnen worden verklaard door het verschil in structuur op de B-30-plaats, waar humane insuline een extra OH-groep bezit en daardoor wat meer hydrofiel is.<sup>8</sup> Wat de verlengd werkende preparaten met humane insuline betreft bleek Humuline NPH Lilly duidelijk sneller te worden geresorbeerd en daardoor ook een kortere werkingsduur te hebben dan varkens-NPH.<sup>9</sup> Dit is klinisch van betekenis omdat dit in vergelijking met varkens-NPH de volgende ochtend tot hogere nuchtere bloedsuikerspiegels kan leiden.<sup>10 11</sup> Wellicht speelt de preparaatsamenstelling van Humuline NPH Lilly hierbij een rol. Van de Insuline Protaphane HM, kon tot op heden géén verschil in resorptiekinetiek met varkens-NPH worden aangetoond.<sup>12</sup>

Een belangrijke stimulans voor de ontwikkeling van humane insuline was de verwachting dat deze 'homologe' insuline niet immunogeen zou

zijn en bij instelling van nieuwe patiënten in het geheel geen antilichamen zou induceren. Helaas bleken ook de humane insulinen zowel in semi-synthetische<sup>13</sup> als in biosynthetische<sup>14</sup> vorm nog immunogeen, zij het in nog geringere mate dan ver gezuiverde varkensinsuline. Verder zijn er aanwijzingen dat humane insuline ook minder immunoreactief kan zijn, dat wil zeggen een geringere bindingsaffiniteit kan hebben voor reeds geïnduceerde antilichamen tegen runder- of varkensinsuline. Inderdaad werden met humane insuline enkele opvallende resultaten bereikt bij patiënten met allergie of resistentie voor dierlijk insuline.<sup>15 16</sup>

Bij alle inspanning om een zo natuurlijk mogelijke humane insuline te ontwikkelen doet het overigens wat vreemd aan dat in een aantal preparaten ter verkrijging van een verlengd effect als vanouds het visse-eiwit protamine is verwerkt. In een editorial van *Netherlands Journal of Medicine* schreef Meinders dan ook terecht: 'One of the theoretical advantages of using human insulin may be lost because of its coupling to a non-human protein'.<sup>17</sup>

Inderdaad is in verschillende onderzoeken gebleken dat protamine in protamine-insuline immunogeen kan zijn. In dit verband is in de literatuur onder meer opgemerkt: 'Although much attention has been focussed on antibodies to insulin and hormonal contaminants, the implications of antibodies to protamine have been overlooked'.<sup>18</sup> Ook van zink zijn bij enkele patiënten allergische reacties beschreven.<sup>19</sup> Toevoeging van meer fysiologische stoffen of van stoffen in meer fysiologische concentraties ter verkrijging van een verlengde werking lijkt in het kader van de huidige ontwikkeling eerder in aanmerking te komen.

#### KEUZE CRITERIA

Bij het kiezen van een insulinesoort kan men zich laten leiden door farmacologische verschillen, door resorptieverschillen en door verschillen in bijwerkingen. Verschillen tussen de van de diverse species afkomstige insulinen ten aanzien van de glycogenese, de lipogenese, de remming van de glucogenese en de receptorwerking zijn nimmer geconstateerd.

Tot op dit moment lijkt alleen het beschreven verschil in resorptiesnelheid van enkele humane insulinen klinische consequenties te hebben. Voor een goede regulering moet men namelijk in sommige gevallen met twee injecties van een humaan preparaat gaan behandelen waar men vroeger met één injectie van een varkens- of runderpreparaat kon volstaan. De fabrikanten geven dit in de desbetreffende bijsluiters aan.

De hoop dat er tegen humane insuline in het geheel geen antilichamen zouden worden gevormd is, zoals gezegd, niet uitgekomen. Wel is al geconstateerd dat de antilichaamspiegels bij humane insuline lager zijn dan bij toepassing van varkensinsuline het geval is.<sup>13 20 21</sup> In hoeverre dit echter tot klinische voordelen zou kunnen

leiden ten aanzien van het ontstaan van late complicaties, is nog niet met zekerheid bekend. Enerzijds wordt wel verondersteld dat insuline-antilichamen een rol zouden kunnen spelen bij het ontstaan van microvasculaire complicaties,<sup>20</sup> hoewel dit nimmer aannemelijk is gemaakt. Anderzijds blijken deze voor diabetes mellitus kenmerkende complicaties ook te ontstaan bij patiënten met type II-diabetes die nooit met insuline zijn behandeld. Het enige probleem van antilichamen is de reversibele binding met insuline, hetgeen aanleiding kan geven tot een wat hogere, benodigde dosering en een geringe verlenging van de werkingsduur.

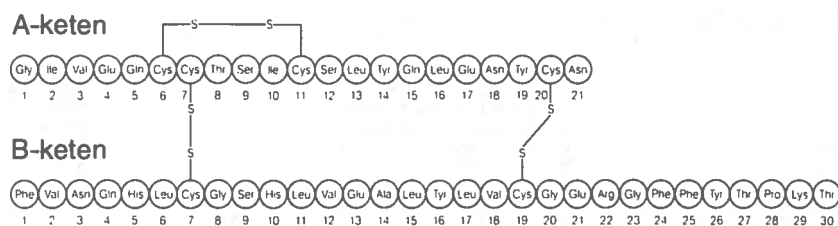
Het voornaamste doel van de behandeling van diabetes blijft vooralsnog het streven naar bloedsuikerspiegels die zoveel mogelijk overeenkomen met die bij de mens zonder diabetes. Er is nog niet aangetoond dat dit doel met humane insuline dichterbij zou worden benaderd dan met niet-humane insuline. Een positief aspect van humane insuline voor de patiënt is het besef dat hij met 'menschelijke' insuline wordt behandeld. De keuze om een therapie met varkensinsuline te veranderen door het voorschrijven van humane preparaten lijkt voornamelijk door emotionele argumenten te worden bepaald.

## CONCLUSIE

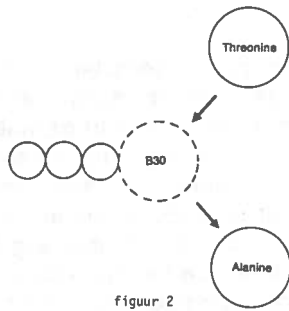
In een commentaar in het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde van 16 april 1983 sprak Touber<sup>22</sup> de verwachting uit dat in de nabije toekomst de meeste, zo niet alle, diabetespatiënten met humane insuline zullen worden behandeld. Destijds beval Touber deze insuline bij uitstek aan voor patiënten met insuline-allergie en in gevallen van tijdelijke toediening van insulinen, zoals bij zwangerschapsdiabetes of bij patiënten met type II-diabetes. Dit advies lijkt thans nog zeer reëel, hoewel prospectief onderzoek nog zal moeten uitwijzen of dit zinvol is. Omzetten op humane insuline van patiënten die al lang met insuline worden behandeld, is niet nodig.

De conclusie van deze tussenbalans is dan ook de volgende: chemisch-technisch bezien mag de mogelijkheid om humane insuline te produceren zeker als een mijlpaal worden beschouwd. Een andere mijlpaal is te bereiken door patiënten in psychisch en sociaal opzicht optimaal te begeleiden. In hoeverre het voorschrijven van humane insulinen bijdraagt tot een verbeterde integrale zorg is vooralsnog onduidelijk; de toekomst zal dit moeten leren.

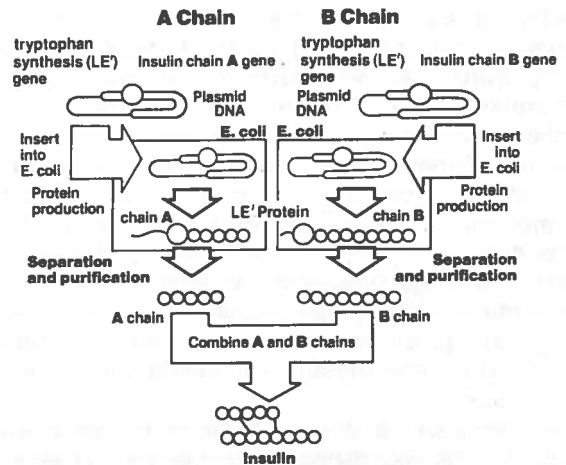
TABEL VAN DE BESCHIKBARE PREPARATEN VAN HUMANE INSULINE			
	<i>kort werkend</i>	<i>verlengd werkend</i>	<i>bifasisch</i>
semisynthetisch	Insuline Actrapid® HM  Insuline Velosulin Humaan®	Insuline Monotard® HM (zinkinsuline) Insuline Protaphane® HM (isofane insuline, bevat protamine) Insuline Insulatard Humaan® (isofane insuline, bevat protamine)	Insuline Mixtard Humaan® (bevat 30% kort werkende en 70% isofane insuline) Insuline Initard Humaan® (bevat 50% kort werkende en 50% isofane insuline)
biosynthetisch	Humuline Regular Lilly®	Humuline NPH Lilly® (isofane insuline, bevat protamine)	Humuline 20/80 Lilly® (bevat 20% kort werkende en 80% isofane insuline) Gebu® 2'85



figuur 1



figuur 2



(Met toestemming ontleend aan een publikatie van Polderman<sup>5</sup>)

figuur 3

#### Literatuur

1. Teuscher A. Die biologische Wirkung von voll synthetischem Insulin bei Patienten mit Diabetes mellitus. Schweiz Med Wochenschr 1979; 109: 743-47.
2. Markussen J, Damgaard U, Pingel M et al. Human insulin (Novo): Chemistry and characteristics. Diabetes Care 1983; 6(suppl 1): 4-8.
3. Sonnenberg GE, Berger M. Human insulin: much ado about one amino acid? Diabetologia 1983; 25: 457-59.
4. Karam JH, Btzwiler DD. International symposium on human insulin. Diabetes Care 1983; 6(suppl 1): 1-68.
5. Polderman AKS. Biosynthetische geneesmiddelen. Insulineproductie met behulp van DNA-recombinatie. Pharm Weekbl 1982; 117: 919-29.
6. Skyler JS. Symposium on human insulin of recombinant DNA origin. Diabetes Care 1982a; (suppl 2): 5.
7. Kemmer FW, Sonnenberg G, Cüppers HJ. Absorption kinetics of semi-synthetic human insulin and biosynthetic (recombinant DNA) human insulin. Diabetes Care 1982; 5(suppl 2): 23-8.
8. Chawdhury SA, Dodson EJ, Dodson GG et al. The crystal structures of three non-pancreatic human insulins. Diabetologia 1983; 25: 460-64.
9. Skyler JS. Human insulin of recombinant DNA origin: clinical potential. Diabetes Care 1982; 5(suppl 2): 181-86.
10. Clark AJL, Knight G, Wiles PG et al. Biosynthetic human insulin in the treatment of diabetes. A double-blind cross-over. Lancet 1982; ii: 354-57.
11. Galloway JA, Peck (Jr) BP, Fineberg SE. The U.S. 'New Patient' and 'Transfer' Studies. Diabetes Care 1982; (suppl 2): 135-39.
12. Hildebrandt P, Birch K, Sestoft L et al. Dose-dependent subcutaneous absorption of porcine, bovine and human NPH insulins. Acta Med Scand 1984; 215: 69-73.
13. Scherthaner G, Borkenstein M, Fink M et al. Immunogenicity of human insulin (Novo) or pork monocomponent insulin in HLA-DR-Typed insulin-dependent diabetic individuals. Diabetes Care 1983; 6(suppl 1): 43-8.
14. Fineberg SE, Galloway JA, Fineberg NS et al. Immunogenicity of recombinant DNA human insulin. Diabetologia 1983; 25: 465-69.
15. Falholt K, Hoskam JAM, Karamanos BG et al. Insulin-specific IgE in serum of 67 diabetic patients against human insulin (Novo), porcine insulin, and bovine insulin. Four case reports. Diabetes Care 1983; 6(suppl 1): 61-65.
16. Wu W, Landahl H, Nolte M et al. Positive cooperativity of anti-insulin antibodies in insulin-treated diabetic patients (Abstract). Clin Res 1983; 31: 95A.
17. Meinders AE. Biosynthetic human insulin. Neth J Med 1982; 25: 329-31.
18. Kurtz AB, Gray RS, Markanday S et al. Circulating IgG antibody to protamine in patients treated with protamine-insulins. Diabetologia 1983; 25: 322-24.
19. Feinglos MN, Jesasothy BV. 'Insulin' allergy due to zinc. Lancet 1979; i: 122-124.
20. Iavicoli M, Andreani D in: Formation of IgG specific for insulin: clinical consequences. Immunology in diabetes, 221-34. Ed. Andreani D et al. Kluwer Medical Publications, London 1984.
21. Ege H, Heding LH in: Prolongation and reduction of the effect of circulating insulin caused by insulin antibodies. Artificial systems for insulin delivery, 69-74. Ed. Brunetti P et al. Raven Press, New York 1983.
22. Touber JL. Humane insuline. Ned Tijdschr Geneesk 1983; 127: 684-86.

## GENEESMIDDELENBULLETIN

#### Adviesraad:

Prof. dr E. van der Does  
(voorzitter), Rotterdam  
P.C.M. van den Berg, Amsterdam  
Prof. dr A.J. Dunning, Amsterdam

S. Flikweert, Nijkerk  
H.A. van Geuns, Leidschendam  
Prof. dr F.W.J. Gribnau, Nijmegen  
Dr F. Kaisbeek, 's-Gravenhage  
Dr J.F.F. Lekkerkerker, Enschede  
Dr H. Mattie, Leiden

Prof. dr M.F. Michel, Rotterdam  
Prof. dr A.S.J.P.A.M. van Miert, Utrecht  
Mw dr B.C.P. Polak, Rotterdam  
Prof. dr F. Schwarz, Utrecht  
Dr P. Siderius, Voorschoten  
R.W. Zaandnoordijk, 's-Gravenhage

**Redactiecommissie:** Prof. dr E. van der Does (voorzitter); Dr M.N.G. Dukés (adv. lid), Kopenhagen; Mw L.T.W. de Jong-van den Berg, Groningen; Dr J. Lubsen, Rotterdam; Dr J.P. Nater, Groningen; Mw M. Pannevis, Rotterdam, Dr C.A. Teijgeler (adv. lid), Leidschendam

**Redactiestaf/-secretariaat:** Mw H.H. Kortland-Brinkman / Mw M. Brouwer-Klopper, Mw J.J. Doorschodt-van der Steenhoven

Niets uit deze uitgave mag worden vervoelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever

**Uitgave:** Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur