

مروری بر روش‌های غیر تزریقی انسولین

ناهید خلیلی^۱، سید سجاد محسنی صالحی منفرد^۱، حامد وحیدی^۲، عطیه طالب پور^۲، مرتضی رفیعی تهرانی^۳، فرید عابدین درکوش^۳،
باقر لاریجانی^{۱*}

چکیده

در بیماری دیابت، کنترل قند خون در محدوده نرمال به منظور جلوگیری از ایجاد هرگونه عارضه‌ای بسیار اهمیت دارد. در حال حاضر این کار به وسیله درمان پیچیده‌ای شامل تزریق‌های متعدد روزانه انسولین و یا تزریق مداوم انسولین به وسیله پمپ و پایش دقیق میزان قند خون انجام می‌گیرد. روشی که بتواند از تزریق‌های متعدد انسولین جلوگیری کرده و فارماکوکینتیک انواع انسولین را بهبود بخشد، همیشه در کانون توجهات در تحقیقات مربوط به دیابت بوده است. در صورتی که این شیوه‌ها توسعه یابند، بطور کلی غیر تهاجمی بوده و مطلوب بیماران هستند و کمک می‌کنند تا بیماران به کنترل بهتری از قند خون برسند. تاکنون امید بخش‌ترین روش جایگزین، روش استنشاقی بوده است که از میان آنها Exubera[®] از طرف EMEA و FDA برای استفاده بیماران دیابتی ۱ و ۲ مورد تأیید قرار گرفت اما آن هم بدلیل هزینه‌های بسیار زیاد و عوارض تنفسی، مورد استقبال واقع نشد و توسط شرکت سازنده از بازار جمع‌آوری گردید. دیگر روش‌ها نیز در حال پیشرفت هستند. اخیراً در دو روش Intestinal (HIM2) و Buccal (oral-lyn) پیشرفت‌های جالبی بدست آمده است. در مقاله مروری پیش رو، روش‌های مختلف از جمله نازال، بوکال، چشمی، خوراکی، ترنس درمال، ریوی، رکتال و حتی واژینال و رحمی تجویز انسولین که در تحقیقات مورد بررسی قرار گرفته‌اند بیان شده و نقاط قوت و ضعف و همچنین آینده آنها مورد بحث و بررسی قرار گرفته است.

واژگان کلیدی: انسولین خوراکی، درمان، دیابت

۱- مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- مرکز پژوهش‌های علمی دانشجویان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* نشانی: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی

تهران، تلفن: ۸۸۲۲۰۰۳۷ - ۰۲۱، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲ - ۰۲۱، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

مقدمه

مهم‌ترین هدف در بیماری دیابت، کنترل و حفظ قند خون در محدوده نرمال به منظور جلوگیری از ایجاد هرگونه عارضه‌ای می‌باشد. رژیم مناسب انسولین، رژیمی است که قادر به تقلید ترشح فیزیولوژیک انسولین باشد. با این حال تنها در تعداد اندکی از بیماران دیابتی نوع ۱ ما شاهد HbA1C کمتر از ۷٪ برای طولانی مدت هستیم که این کار به وسیله درمان پیچیده‌ای از انسولین شامل تزریق‌های متعدد روزانه و یا تزریق مداوم انسولین به وسیله پمپ و پایش دقیق میزان قند خون انجام می‌گیرد. کلیه روش‌های رایج مصرف انسولین باعث هیپرگلیسمی محیطی، افزایش بروز هیپوگلیسمی و افزایش وزن می‌شوند. علاوه بر این، تزریقات مداوم یا متناوب در یک بیماری مزمن، بیمار را رنجور می‌کند.

در ۲۰ سال اخیر شیوه‌های تولید پروتئین‌های انسانی بوسیله DNA نوترکیب به خوبی توسعه یافته است و در حال حاضر می‌توان مقادیر کافی از پروتئین‌ها مانند هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، آنتی بادی‌های نوترکیب و سائتوکاین‌ها را تولید نمود. اما به دلیل بالا بودن وزن مولکولی، هیدروفیلی (آبدوستی)، عدم پایداری در برابر مواد شیمیایی و آنزیمی و جذب ضعیف گوارشی، آنها را تنها می‌توان از طریق تزریقی مصرف نمود. بنابر این این سؤال که آیا راه‌های دیگری برای مصرف انسولین به عنوان یک پروتئین با ویژگی‌های ذکر شده وجود دارد یا نه از همان ابتدای استفاده از انسولین مطرح بوده است. روشی که بتواند از تزریق‌های متعدد انسولین جلوگیری کرده و فارماکوکینتیک انواع انسولین را بهبود بخشد.

این سیستم‌ها در صورتی که توسعه یابند، بطور کلی غیر تهاجمی بوده و مطلوب بیماران هستند و کمک می‌کنند تا بیماران به کنترل بهتری از قند خون برسند.

راه‌های مختلفی امتحان شده است و با وجودی که محققان در مورد روش‌های نازال، بوکال، چشمی، خوراکی، ترنس درمال، ریوی، رکتال و حتی واژینال و رحمی تجویز انسولین کار کرده‌اند؛ فراهم زیستی پایین این روش‌ها باعث محدودیت استفاده از آنها شده است [۱].

در این مقاله بطور خلاصه راه‌های مختلف غیر تزریقی که تاکنون جهت تجویز انسولین آزمایش شده و همچنین قوت و ضعف و آینده هر کدام از آنها مورد بحث و بررسی قرار گرفته است.

راه چشمی (Ocular)

انسولین به صورت قطره‌های چشمی بر روی حیوانات آزمایش شده است. در صورت مصرف انسولین، تنها با افزایش غلظت، شاهد هیچ‌گونه تغییری در میزان انسولین سیستمیک و مسمومیت نخواهیم بود. اما در صورت اضافه کردن مواد تقویت کننده^۱، جذب انسولین افزایش می‌یابد. اما نکته قابل توجه در این جا آن است که با افزایش غلظت این مواد جهت تأثیر، مسمومیت چشمی هم افزایش می‌یابد [۲،۳].

راه واژینال و راه رکتال

این دو روش به فاصله بسیار اندکی از کشف انسولین آزمایش شدند که متأسفانه با اشکالاتی در جذب مخاطی مواجه بوده و همچنین فراهم زیستی^۲ آنها بسیار کم بود (در حدود ۱۰-۴٪).

فایده استفاده رکتال دارو، عدم وجود آنزیم‌های گوارشی است. همچنین به علت آنکه انسولین در این منطقه مستقیماً وارد سیستم لنفاوی شده و وارد کبد می‌شود، انسولین محیطی افزایش چندانی ندارد. تقویت کننده‌ها به منظور افزایش جذب استفاده شده‌اند اما استفاده از آنها واکنش شدید موضعی را به همراه داشته است [۴،۵]. همچنین با وجودی که مصرف غذا یا حرکات روده در آن تأثیر ندارد، ولی استفاده آن تا حدی دردناک بوده و پذیرش کمی از طرف بیمار دارد.

مسیر پوستی (Transdermal)

نکته قوت این روش، دسترسی آسان به پوست و همچنین سطح وسیعی است (۲-۱ متر مربع) که پوست در اختیار ما می‌گذارد اما نقطه ضعف آن است که پوست در برابر عبور پلی‌لیپیدهای بزرگ و آبدوست مانند انسولین به

1- Enhancer

2- Bioavailability

روش پوستی شده است. شروع اثر و طول اثر آن مشابه انسولین اولترالنت بوده و توانسته است میزان قند گردش عمومی را در محدوده نرمال برای حداقل ۱۶ ساعت نگه دارد [۹]. این نتایج بدست آمده در برخی مطالعات دیگر نیز تأیید شده است و امکان استفاده از این روش برای تأمین نیاز پایه به انسولین را می‌دهد.

روش‌های فیزیکی

Iontophoresis: جهت افزایش نفوذ انسولین از راه پوستی، یونتوفورز کاتدی آزمایش شده است. این روش بر اساس تغییر پتانسیل الکتریکی در حد چند میلی‌آمپر در پوست جهت کاهش مقاومت الکتریکی نسبت به شارژ انسولین عمل می‌کند. این شیوه به ما این امکان را می‌دهد که بتوانیم مقدار انسولین موجود در بافت را کنترل کنیم. با این حال کارایی روش بالا نیست. جهت افزایش کارایی می‌توان از روش‌هایی مانند تراشیدن موهای موجود در ناحیه و یا زخم کردن و تخریب کردن لایه Stratum corneum پوست بهره جست [۱].

به هر حال مقدار انسولینی که از این طریق وارد بدن می‌شود برای برطرف کردن نیاز پایه‌ی بدن به انسولین ناکافی است و این روش ایمنی طولانی مدت را فراهم نمی‌کند.

Sonophoresis: از اولتراسوند با فرکانس پایین در حدود ۱۶۰-۲۰ KHz جهت افزایش ورود انسولین پوستی به بدن استفاده می‌شود. این انسولین می‌تواند در آب حل و یا اینکه با یک هیدروژل مخلوط شده باشد. در بین داوطلبان دیابتی، ابزاری که در پوست تولید انرژی در حد ۵۵ KHz می‌کرد، باعث کنترل قند خون با دوز مؤثر انسولین شد. کفایت استفاده از اولتراسوند بستگی به دانسیته انرژی و طول موج اولتراسوند دارد [۱۰]. اینگونه تصور می‌شود که استفاده ترکیبی از اولتراسوند و یونتوفورزیس، اثر سینرژیست دارند. با اینکه این روش کار آمد به نظر می‌رسد، اما هنوز نیاز به مطالعات بلند مدت‌تری دارد. روش‌های دیگری نیز در دست بررسی هستند که شامل موج‌های فشاری^۵ و Electroporation است. البته این روش‌ها هنوز در مراحل اولیه بررسی هستند.

صورت یک سد عمل کرده و اجازه عبور به آنها را نمی‌دهد. علت این نوع عملکرد پوست، وجود سلول‌های لایه فوقانی یا همان Stratum corneum می‌باشد. این سلول‌ها به علت داشتن ماتریکس غنی از لیپید، به پلی پپتیدهای بزرگ و آبدوست اجازه عبور نمی‌دهند [۶]. به منظور غلبه بر این مانع و افزایش امکان جذب انسولین؛ می‌باید با روش‌های فیزیکی، الکتریکی و یا شیمیایی این لایه چربی برداشته یا شکسته شود. برای رسیدن به این هدف، روش‌های مختلفی آزمایش شده است. این روش‌ها به دو گروه عمده شیمیایی و فیزیکی تقسیم شده‌اند که در گروه شیمیایی از تقویت کننده‌های شیمیایی و لیپوزوم‌ها استفاده شده و در گروه فیزیکی از روش‌های Sonophoresis و Iontophoresis استفاده شده است.

روش‌های شیمیایی

جابه‌جایی مولکول‌ها از داخل سلول‌های Stratum corneum آهسته است و سازوکار این جابه‌جایی، پیچیده به نظر می‌رسد. این جابه‌جایی به سه عامل بستگی دارد: (۱) قدرت جذب^۱، (۲) قدرت انتشار^۲ و (۳) ضریب توزیع^۳. به‌منظور بهبود قدرت جذب، باید این سه مورد را هدف قرار داد. تقویت کننده‌های شیمیایی می‌توانند نفوذ پذیری را از طریق افزایش ضریب توزیع دارو و یا افزایش عملکرد ترمودینامیک دارو در داخل حامل و یا تغییر دادن ماهیت لایه خارجی پوست، افزایش دهند [۷].

وارد کردن^۴ انسولین در لیپوزوم، باعث ایجاد تأثیر بیولوژیک سیستمیک خاصی نمی‌شود؛ چرا که با توجه به اندازه‌شان می‌توانند از سوراخ‌های باریکی به قطر کمتر از ۳۰ nm که در لایه خارجی پوست قرار دارند، عبور کنند. در مطالعات جدیدتر Transfersome ها مطرح شده‌اند که وزیکول‌های چربی با قدرت انحطاف بسیار بالا و قابلیت تغییر شکل بسیار زیاد می‌باشند [۸]. طبق گزارش‌های ثبت شده، استفاده از transfersome حاوی انسولین با نام تجاری Trunsfusulin[®] باعث جذب ۵۰٪ انسولین از طریق

- 1- Solubility
- 2- Diffusion
- 3- Partition Coefficient
- 4- Incorporation

5- Pressure wave

روش دهانی (معدده‌ای - روده‌ای)

Per oral (Gastro intestinal)

مصرف انسولین از طریق دهان برای مصرف کنندگان انسولین روشی بسیار جذاب به نظر می‌رسد چرا که این راه بسیار راحت‌تر خواهد بود و همچنین انسولین رسیده به کبد توسط ورید پورت، مسیر فیزیولوژیک‌تری را نسبت به دیگر روش‌ها پیموده است. با این حال در روش تجویز خوراکی پپتیدها و پروتئین‌ها مانند انسولین، در مسیر جذب دارو از دستگاه گوارش بداخل گردش خون چندین سد وجود دارد: ۱- آنزیم‌های گوارشی موجود در دهان مثل لیزوزیم، ۲- اسیدهای هضم کننده معده، ۳- آنزیم‌های گوارشی دوازدهه که خاصیت پروتئولیتیک دارند، ۴- پپتیدهای موجود در جدار جذبی روده کوچک و ۵- نفوذپذیری ضعیف سلول‌های اپی‌تلیال روده با خواص غربالگری این جدار که می‌تواند از عبور غیر فعال ماکرو ملکول‌های هیدروفیل شبیه به پپتیدها و پروتئین‌ها از روده به گردش خون جلوگیری کند [۱۱]. علاوه بر این‌ها، داروی جذب شده از راه سیستم گوارشی حتماً وارد کبد شده و تحت متابولیسم گذر نخست^۱ قرار گرفته و بخش مهمی از آن متابولیزه می‌گردد [۱۲]. بنابراین بهترین محل برای آزادسازی انسولین، روده باریک و وسط ژژنوم می‌باشد و اگر بتوان انسولین را به این محل رسانید، از آسیب آنزیم‌های پانکراتیک و معدی حفظ شده است [۱۳]. مهمترین سد موجود در دستگاه گوارش که موجب عدم جذب این ترکیبات می‌شود، ساختمان فیزیکی خاص این مناطق می‌باشد که بنام اتصالات محکم^۲ نامیده می‌شود و در قسمت آپیکال سلول‌های جدار روده قرار داشته و موجب محدودیت جذب ترکیبات هیدروفیل به داخل گردش خون می‌گردد [۱۴].

تلاش‌های بسیاری جهت افزایش جذب انسولین از روده انجام گرفته است که شامل استفاده از تقویت کننده‌های جذب^۳ مانند اسیدهای صفراوی و اسیدهای چرب بود و این تقویت کننده‌ها به دو صورت با یا بدون آنزیم‌های مهار کننده مانند آپروتینین (aprotinin) وجود دارند. روش‌های

دیگر جهت افزایش قدرت جذب، استفاده از لیپوزوم‌ها، امولسیون‌ها، mucobioadhesives و سیستم‌های پلیمری^۴ بوده است. در مطالعات قبلی لیپوزوم‌ها در حیوانات مورد بررسی قرار گرفتند که نتیجه این تحقیقات، یک جذب اندک از انسولین به همراه کاهش قند خون به صورت متغیر بود. این تغییر وابسته به خواص فیزیکی و شیمیایی لیپوزوم‌ها بوده است [۱۵].

پلیمریزاسیون، قرار دادن انسولین در پلیمر قابل تخریب اکریل و کپسول دار کردن انسولین در میکروسفرها نیز مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. این روش‌ها انسولین را در محل مورد نظر یعنی کبد آزاد می‌کنند. لازم به ذکر است که کلیه این روش‌ها موفقیت‌های نسبی را بدست آوردند اما هنوز نیاز به مطالعات بیشتری دارند.

ترکیب مولکول انسولین با الگومرهای دوگانه دوست (Amphiphilic) امید بخش‌تر می‌باشد. HIM2^۱ یا انسولین کونژوگه شده با هگزیل، مثالی از این فرمولاسیون است که قابلیت حلالیت و پایداری مولکول را افزایش می‌دهد. در این ترکیب، انسولین نو ترکیب انسانی به همراه یک اولیگومر دوگانه دوست توسط پیوند کوالان به گروه آمینواسید آزاد روی انتهای $\beta 29 - Iys$ پیوند شده است [۱۶]. در افراد سالم، HIM2 تولید اندوژن گلوکز را کاهش و همچنین برداشت گلوکز بافتی را افزایش می‌دهد که این دو اثر وابسته به دوز می‌باشد. در این ترکیب، سرعت جذب انسولین بالاست. حداکثر غلظت انسولین در پلاسما تنها با گذشت ۶۰ دقیقه بدست آمده و با گذشت ۱۲۰ دقیقه به میزان پایه باز می‌گردد و اثر انسولین تا ۲۴۰ دقیقه بعد از مصرف باقی می‌ماند. در یک مطالعه بالینی که در فاز ۱/۲ انجام شده، گزارش شده است که HIM2 در کنترل هیپرگلیسمی بعد از غذا در افراد دیابتی نوع ۱ موفق بوده است [۱۷]. در بیماران دیابتی نوع ۲، یک مطالعه افزایش دوز انجام شده که نتیجه آن به این قرار است؛ MIM2 دهانی و انسولین زیر جلدی وضعیت مشابهی را در کنترل هیپرگلیسمی بعد از صرف غذا به مدت ۲ ساعت فراهم می‌آورند. همچنین سطح زیر منحنی (AUC) انسولین در زمان‌های ۰-۲۴۰ دقیقه بین HIM2 خوراکی و انسولین زیر

1- First pass metabolism

2- Tight junction

3- Permeation enhancers

4- Polymer – based

جلدی مشابه بود. اما HIM2 باعث کاهش غلظت انسولین محیطی می‌شود. این نتایج نشانگر آن است که HIM2 جذب خوبی داشته و مستقیماً از طریق گردش پورتال به کبد می‌رود و می‌تواند حالتی مشابه ترشح فیزیولوژیک انسولین را ایجاد کند.

سیستم دیگری که توسط دکتر درکوش و همکاران در دانشکده داروسازی دانشگاه تهران توسعه یافته است، سیستم دارورسان خوراکی برپایه SPH و SPHC می‌باشد. یکی از ویژگی‌های برجسته استفاده از پلیمرهای SPH و SPHC، سازوکار عمل این ترکیبات می‌باشد. این ترکیبات پس از آزاد شدن در روده، قادر به جذب مایعات گوارشی بوده و سریعاً متورم می‌شوند و پس از متورم شدن، به صورت مکانیکی به دیواره روده چسبیده و موجب نگهداری شکل دارویی موجود در پلیمر در محل جذب آن در جدار روده، برای مدتی می‌شوند و در طی این زمان، دارو از حامل خود آزاد شده و از طریق دیواره روده جذب می‌شود [۱۸]. سیستم دارورسان SPH و SPHC از دو جزء ساخته شده: ۱- سیستم ناقل که شامل پلیمر SPH و یا SPHC است و ۲- هسته مرکزی که حاوی داروی پیتیدی می‌باشد. هسته مرکزی دارو می‌تواند در داخل سیستم ناقل جاسازی شده و یا به سطح این سیستم ناقل متصل شود. پس از ساخته شدن پلیمرهای SPH و SPHC، اگر قرار باشد دارو در داخل پلیمر جایگزین شود (Core Inside)، ابتدا درون پلیمر SPHC حفره‌ای ایجاد شده و دارو به صورت میکروپارتیکل در مرکز آن قرار می‌گیرد و از تکه‌ای دیگر از پلیمر SPH به عنوان درب استفاده می‌شود و بدین ترتیب ترکیب دارویی پیتیدی در مرکز پلیمر قرار می‌گیرد. اگر چنانچه بخواهیم دارو در سطح پلیمر قرار بگیرد (Core Outside)، سوراخ‌هایی در سطح پلیمر SPHC ایجاد می‌شود و دارو به صورت میکرو قرص‌ها در آن سوراخ‌ها توسط چسب بیولوژیک بنام Histoacryl قرار داده می‌شود [۱۹]. این پلیمرها در کپسول‌های ژلاتینی با سایز ۳ صفر گذاشته شده و کپسول‌ها هم با محلول Eudragit S100 %6 پوشانده می‌شوند تا از اسید معده حفظ شوند. این پلیمرها وقتی به محیط خشی روده می‌رسند، پوشش روده‌ای و لایه ژلاتینی آنها باز شده و

پلیمر سریعاً ورم می‌کند. سازوکار اثر پلیمرهای SPH و SPHC علاوه بر حمل پتیدها، فشار بر اتصالات محکم سلول‌های اپی تلیال جدار روده و باز کردن نسبی این اتصالات و تسهیل عبور پتیدها از میان این اتصالات ذکر شده که این عمل همچنین موجب محافظت داروهای پیتیدی از تماس با آنزیم‌های گوارشی درون روده و آزاد شدن دارو در محل جذب آن در جدار روده و تسهیل جذب دارو از محل اتصالات محکم بیان شده است. این اثرات پلیمرها در باز کردن اتصالات محکم سلول‌های اپی تلیال روده قابل بازگشت بوده و پس از متلاشی شدن پلیمرها تحت فشار پرستالتیک روده، اتصالات محکم سلول‌های اپی تلیال جدار روده به حالت اولیه خود باز می‌گردند و پلیمر از بدن دفع می‌گردد [۲۰]. مطالعات حیوانی انجام شده بر روی جذب انسولین بر پایه پلیمرهای SPH و SPHC، نشان دهنده فراهم زیستی انسولین در روش Core Outside به میزان $0.4 \pm 1/3\%$ و در روش Core Inside به میزان $0.7 \pm 1/9\%$ می‌باشد که نشان دهنده آن است که پلیمرهای SPH و SPHC قادر به افزایش جذب انسولین در حیوانات سالم بود [۲۱]. به هر حال، کپسول‌های ساخته شده توسط درکوش و همکاران در مطالعه‌ای در مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران بر روی ۱۸ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ جهت کنترل قند خون پس از غذا مورد آزمایش قرار گرفت که متأسفانه نتایج نه در کپسول‌های Core Outside و نه Core Inside قابل قبول نبود (اطلاعات منتشر نشده).

راه دهانی (زیر زبانی) (Buccal)

مخاط buccal، در دسترس است و سطح جذبی بزرگی در حدود $200-100 \text{ cm}^2$ را فراهم می‌کند. همچنین در این محل فعالیت آنزیمی پروتئولیتیک اندک بوده و خون‌رسانی این ناحیه به نسبت خوب می‌باشد؛ اما عبور مقادیر متغیری از بزاق دهان و ساختمان چند لایه اپی‌تلیوم دهان، موانعی برای جذب مخاطی انسولین به حساب می‌آیند. روش‌های مختلفی جهت بهبود جذب انسولین از طریق مخاط دهان انجام شده که شامل موارد زیر است: ۱) استفاده از تقویت

راه بینی (Nasal)

داروهایی مثل اکسی توسین، دسموپرسین و کلسیتونین به صورت داخل بینی استفاده می‌شوند. این مسیر با سطح جذبی بالا (150 cm^2) و واسکولاریزاسیون بسیار و در دسترس بودن، یک مسیر مناسب است [۲۷]؛ ولی در سطح مخاط بینی، آنزیم‌های پروتئولیتیک و سازوکارهای موکوسیولیاری، ایجاد مشکل می‌کنند. زیست دسترسی انسولین داخل بینی به نوع، فرکانس استفاده و حجم و غلظت انسولین، حجم و غلظت افزایش‌دهنده‌های جذبی، اندازه، تراکم، شکل و رطوبت پارتنیکل، ویژگی‌های جریان هوای بینی و هر گونه پاتولوژی داخل بینی ارتباط دارد [۲۸].

مانند راه روده‌ای، برخی عوامل بر زیست فراهمی انسولین از طریق این روش اثر می‌گذارند. نوع، حجم و غلظت انسولین، خواص فیزیکی و شیمیایی ذرات، تفاوت مصرف و در واقع وجود تأثیر گذارنده‌های مختلف در سطح جذب بینی، از جمله این عوامل می‌باشند. برای چندین دهه، تعداد زیادی تقویت کننده برای بهبود جذب انسولین و در عین حال به حداقل رساندن مسمومیت موضعی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند که شامل نمک‌های صفراوی (۱٪ گلوکولات سدیم و ۴٪ دی اکسی کولات)، مشتقات فوزیدیک اسید (۱٪ تارودیدروفوزیدات)، سورفاکتانت ($0.8\% \text{ لارت-9}$)، فسفولیپیدها (۲٪ دی دکانویئل فسفاتیدیل کولین) و سیکلودکسترین (دمتیل β سیکلو دکسترین) می‌باشند [۲۹،۳۰].

ویژگی‌های مصرف انسولین از طریق بینی در افراد سالم و بیماران دیابتی نوع ۱ مورد بررسی قرار گرفته‌اند. مطالعات زیادی در بیماران دیابت نوع ۱ و ۲ در این زمینه انجام شده است ولی متأسفانه نتایج بشدت ناامید کننده بوده‌اند [۳۱،۳۲]. بعضی مطالعات نشان داده‌اند انسولین نازال باعث کاهش قند بعد از غذا می‌شود. در این مطالعات افزایش ناگهانی غلظت انسولین به همراه حداکثر اثر در ۲۰-۱۰ دقیقه و کاهش سریع در انسولین خون طی ۲ ساعت گزارش شده است. همچنین کاهش قند به دوز بالای انسولین و استفاده مکرر نیاز دارد. در مطالعات دراز مدت هم نتایج مشابهی دیده شده است و در ۲ مطالعه از سه

کننده‌های جذبی شامل نمک‌های صفراوی، سورفاکتانت، اسیدهای چرب، الکل و موارد شلاته کننده، (۲) مهار کننده‌های پروتئاز، (۳) چسبنده‌های بیولوژیک شامل برچسب، فیلم و ژل و (۴) تغییر چربی دوستی^۱ شامل کنژوگه کردن با پلیمرها.

با این حال، در مطالعات انجام شده با این روش بر روی حیوانات، مشاهده گردید که کاهش قند خون، تنها ۳۰٪ میزانی است که با استفاده از انسولین تزریقی بدست می‌آمد. همچنین قابلیت ساخت آنها نیز ضعیف به نظر می‌رسد.

روش امیدوار کننده دیگری نیز توسط گروه بزرگ زیست فناوری Generex واقع در تورنتو کانادا معرفی شده است. این روش یک فرمولاسیون مایع از انسولین نوترکیب انسانی (Oral – Lyn) است و تقویت کننده‌های جذبی با یک پیشران مخلوط شده و یک Rapid mist[®] به وجود می‌آید که ذرات کوچک را از یک اسپری حاوی مایع به داخل حفره دهان می‌فرستد. این عمل باعث جذب سریع انسولین می‌شود. فارماکوکینتیک این روش در انسان‌های سالم و بیماران دیابتی نوع ۱ مورد بررسی قرار گرفت. زمان رسیدن به حداکثر در این روش ۲۵ دقیقه بود و در نتیجه در مقایسه با انسولین رگولار زیر جلدی، زمان شروع عمل آن سریع‌تر است [۲۲]. این دارو فراهم زیستی ۴/۶٪ در ۱۲۰ دقیقه و ۲/۶٪ در ۳۶۰ دقیقه داشت [۲۳].

مطالعات کوتاه مدت در بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲، نشان داده است که این روش می‌تواند در کاهش گلوکز خون بعد از مصرف غذا کار آمد باشد؛ اگر چه این روش نیاز به مطالعات بیشتری دارد [۲۵،۲۴].

هر پاف این اسپری، معادل ۱ واحد انسولین زیر جلدی بوده و به خوبی تحمل شده و در مطالعات انجام شده تاکنون بجز سر درد مختصر، هیپوگلیسمی شدید یا عوارض موضعی دیده نشده است [۲۶].

در حال حاضر مطالعه‌ای در مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران در حال اجرا می‌باشد که میزان کارایی این انسولین جدید را بر روی قند پس از غذای بیماران دیابتی مورد ارزیابی قرار می‌دهد.

مطالعه دراز مدت، A1C به صورت مختصر ولی مشخص افزایش یافته است [۳۳، ۳۴].

به تازگی چند نتیجه امیدوار کننده به دست آمده است. به بیماران دیابتی نوع ۲، فرمولاسیون lyophilized انسولین (انسولین فریز و خشک شده) با تقویت کننده‌ای از جنس گلیکوکولات قبل از هر وعده غذایی (به همراه انسولین NPH وقت خواب) داده شد. در مقایسه با مصرف انسولین NPH به صورت زیر جلدی و ۲ بار در روز، گلوکز خون با این روش جدید به صورت مشابهی کنترل شد [۳۳]. در یک مطالعه ۶ ماهه بر روی بیماران دیابتی نوع ۱، یک اسپری gelified انسولین ۳ بار در روز به همراه انسولین NPH ۲ بار در روز مصرف شد و این مقدار انسولین با استفاده از انسولین رگولار زیر جلدی تزریقی ۳ بار در روز اثر مشابهی داشت [۳۵].

روش استفاده از بینی انسولین، عوارض جانبی مهمی نیز به همراه دارد؛ از جمله: ۱- آزرده‌گی و تحریک مخاط بینی به کرات مشاهده می‌شود، ۲- ایجاد immunogenicity (آنتی بادی‌های انسولین افزایش می‌یابد) و همچنین ۳- احتمال آسیب به مخاط بینی و سیستم موکوسیلیاری و افزایش نفوذپذیری مخاط بینی به ویروس‌ها نیز وجود دارد. اگرچه روش نازال یک روش برای آزادسازی انسولین می‌باشد، اما با توجه به محدودیت‌های آن مثل زیست فراهمی پایین، موارد زیاد شکست درمانی و عوارض بالا، هنوز نیاز به کار بیشتر در این زمینه وجود دارد و تا کنون نسبت سود به زیان استفاده از روش داخل بینی، قابل قبول نبوده است [۱].

مسیر ریوی (Pulmonary)

سطح مجاری هوایی ریوی حدود ۱۴۰ میلیمتر مربع بوده و از این نظر یک سطح خوب برای جذب پلی پپتیدها مثل انسولین است. این سطح بخاطر لایه نازک اپیتلیال، نفوذ بالایی دارد [۲۸]. در ریه متابولیسم گذر نخست وجود ندارد؛ اما سازوکار جابه‌جایی ذرات در این ناحیه هنوز به درستی و کامل شناخته نشده است. در مورد انتقال مولکول‌های کوچکی مانند انسولین، فرآیند غالب، انتقال از

طریق اتصالات بین سلولی^۱ است؛ حال آنکه در مورد مولکول‌های بزرگتر، ترنسیتوز^۲ روش غالب انتقال می‌باشد. نحوه تنفس به‌طور عمده در میزان جذب از طریق ریوی مؤثر است و باید تمامی عواملی که تنفس را تحت تأثیر قرار می‌دهند، بررسی شوند تا تأثیر آنها بر روی جذب انسولین استنشاقی مشخص شود. این عوامل به‌طور مثال مصرف سیگار و دخانیات، بیماری آسم، بیماری‌های ریوی، ورزش و توان فرد برای تنفس از طریق دستگاه تنفسی است. تاکنون ۴ سیستم انسولین تنفسی وارد فاز ۳ کار آزمایشی بالینی شده است: ۱) AERx[®] (متعلق به دو شرکت Aradigm و NovoNordisk) که انسولین انسانی را بصورت آئروسول در می‌آورد، ۲) سیستم Exubera[®] (متعلق به شرکت Nektar/Pfizer) که از یک فرمولاسیون پودر خشک استفاده می‌کند، ۳) Alkermes inhaler (متعلق به شرکت Eli Lilly) که پودر انسولین انسانی مهندسی شده تولید می‌کند و ۴) Medton inhaler (متعلق به شرکت Mankind) که پودر انسولین انسانی همراه با Technosphere[®] را تهیه می‌کند. دیگر سیستم‌ها کمتر پیشرفته هستند [۴]. از میان سیستم‌های ذکر شده، تنها Exubera[®] موفق به دریافت مجوز فروش برای استفاده در درمان بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲ از FDA^۲ و EMEA^۳ در سال ۲۰۰۶ گردید. هر چند در سال ۲۰۰۸ به دلایلی که در زیر می‌آید تولید و پخش آن توسط کارخانه سازنده متوقف شد:

این وسیله پودری از انسولین متشکل از انسولین نوترکیب انسانی ۶۰٪ و محلول رقیق کننده^۳ شامل مانیتول، گلیسین، سدیم و نیترات می‌باشد. این پودر در بسته‌هایی بسته‌بندی شده است که هر کدام حاوی ۳-۱ mg انسولین می‌باشد و این مقدار در حدود ۲۸-۸۴ IU است که به ترتیب برابر با ۳ IU و ۹ IU از انسولین زیر جلدی است. طول این وسیله ۲۳ cm است اما قابلیت تاشوندگی داشته و هنگامی که تا می‌شود، اندازه‌ای مشابه اسپری مورد استفاده در آسم را پیدا می‌کند [۳۶، ۳۷].

فارماکوکینتیک این انسولین استنشاقی بررسی شده است و حداکثر اثر آن در حدود دقیقه ۵۵ می‌باشد و نسبت به

1- Junctional Paracellular Transport

2- Transcytose

3- Excipient

[۴۱]. افزایش وزن در استفاده از انسولین استنشاقی مشابه با نوع تزریقی بود [۴۲].

به هر حال با تمام پیشرفتی که در این زمینه وجود داشت و حتی منجر به ورود اسپری انسولین به بازار دارویی شد، مصرف آن به دلیل سختی حمل و نقل اسپری و گران بودن، آنچنان مورد استقبال قرار نگرفت. همچنین دو ایراد مهم به آن وارد بود: اثر آن در کاهش قند خون در هر بار استفاده و در هر بیمار قابل پیش بینی نبود و در این روش آنتی‌بادی بر علیه انسولین بیشتر از روش تزریقی گزارش شد [۳۹، ۴۰]. به علاوه گزارش‌هایی از افزایش بروز کانسر ریه در بین استفاده کنندگان منتشر شد. اگر چه این دارو همچنان مورد تایید FDA می‌باشد، طبق آخرین گایدلاین‌های مربوط به دیابت برای دیابت نوع ۱، هنوز انسولین زیر جلدی کوتاه اثر (رگولار یا آنالوگ) بجای انسولین استنشاقی توصیه می‌شود و در دیابت نوع ۲ نیز پس از درمان‌های اولیه به صورت تغییر رژیم غذایی و ورزش و بدنبال آن داروهای خوراکی کاهنده قند خون، انسولین متوسط الاثر و یا طولانی اثر توصیه می‌گردد و هنوز انسولین استنشاقی جایگاهی در درمان دیابت ندارد. به همه دلایل ذکر شده، شرکت تولید کننده آن (Pfizer)، تولید و پخش آن را در سال ۲۰۰۸ متوقف نمود.

طبق اطلاعات موجود، دیگر شرکت‌های ذکر شده نیز که در توسعه سیستم‌های انسولین استنشاقی مشغول به فعالیت بودند از ادامه تحقیقات در این زمینه دست کشیده‌اند؛ بجز شرکت Mankind که روی Medton inhaler در فاز ۳ کارآزمایی بالینی کار می‌کند [۴۳].

بحث

راه‌های قابل قبول‌تر و با درد کمتر برای مصرف انسولین طی سال‌های گذشته مورد بررسی قرار گرفته‌اند تا از تزریق انسولین و دردسرهای آن جلوگیری شود. تمایل به این راه‌های جایگزین در طی ۲۰ سال گذشته افزایش چشمگیری یافته است و به موازات آن وسایل و روش‌های مصرف نیز پیشرفت کرده‌اند که در این مقاله درباره آنها صحبت شد. با توجه به مطالب گفته شده و تحقیقات انجام شده، هیچ یک از دو روش چشمی و مخاط واژن و رکتوم

انسولین رگولار سریع‌تر به سطح پایه برمی‌گردد. فارماکودینامیک Exubera® با انسولین رگولار و lispro در افراد سالم مقایسه شده است. انسولین استنشاقی دارای سریع‌ترین شروع اثر بوده است. زمان رسیدن به حداکثر اثر آن با انسولین lispro و طول مدت اثر آن با انسولین رگولار مشابه بود [۳۸].

سیگار کشیدن، پروفایل انسولین تنفسی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بیشینه اثر زودتر ظاهر شده و شدت و همچنین کل مقدار انسولین جذب شده بیشتر است. این تغییرات با ترک سیگار قابل برگشت می‌باشد. بجز سیگار، الگوی تنفس (خصوصاً میزان دم و بازدم و عمق استنشاق)، بیماری‌های همراه مثل COPD و ورزش نیز روی این سیستم اثر می‌گذارند [۱] و ایمنی و کارایی این روش هنوز در بیماران مبتلا به آسم، COPD و عفونت حاد تنفسی مورد بررسی قرار نگرفته است.

دو مطالعه تصادفی شده ۶ ماهه در فاز ۳، انسولین استنشاقی را با نوع زیر جلدی آن مقایسه کردند. در مطالعه اول [۳۹] روی ۳۳۵ نفر بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱، انسولین استنشاقی قبل از غذا با انسولین رگولار زیر جلدی به همراه تزریق روزانه دو بار انسولین NPH (درمان مرسوم) مقایسه شد. میانگین کاهش در HbA_{1c} با دو درمان ذکر شده مشابه بود و گلوکز ناشتا و بعد از غذا با انسولین استنشاقی کاهش بیشتری پیدا کرد؛ همچنین هیپوگلیسمی هم کمتر مشاهده شد. مطالعه دوم [۴۰] با طرحی مشابه مطالعه اول انجام شد با این تفاوت که انسولین استنشاقی قبل از غذا، با انسولین رگولار (اما نه آنالوگ) در ۳۶۸ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۱ مقایسه شد. این افراد روزانه ۲ بار انسولین NPH به صورت رژیم basal/bolus دریافت می‌کردند. HbA_{1c} و گلوکز ۲ ساعت پس از صرف غذا با هم مشابه بودند اما گلوکز خون ناشتا در گروه مصرف کننده انسولین استنشاقی کمتر بود. به طور کلی نسبت هیپوگلیسمی در گروه مصرف کننده انسولین استنشاقی کمتر (۹،۳ در مقابل ۹،۹ اپیزود/ بیمار در ماه) اما هیپوگلیسمی شدید در دو گروه مشابه بود. در دیابت نوع ۲، مطالعات مختلفی کارآمدی Exubera® را در مقایسه با درمان‌های مختلف و در مراحل مختلف بیماری سنجیده‌اند

intestinal به علت درناژ هپاتوپورتال، به مسیر فیزیولوژیک ترشح انسولین نزدیک‌تر است. به هر حال، در حال حاضر جایگزینی کامل (basal و prandial) انسولین تزریقی به وسیله روش‌های دیگر میسر نیست و در ضمن جز انسولین استنشاقی Exubera® دیگر روش‌ها (از جمله oral-lyn که در برخی کشورها مجوز فروش دارد)، هنوز مجوز سازمان‌های رسمی را به دست نیاورده‌اند. مطالعات و تحقیقات در زمینه مسیرهای جایگزین انسولین تزریقی همچنان ادامه دارد و نیاز به آن نیز با توجه به کمبودها و نقایص این روش‌ها به خوبی حس می‌گردد.

سپاسگزاری

با تشکر از مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران و خصوصاً خانم محمدقلی.

برای مصرف انسولین مناسب به نظر نمی‌رسند. نتایج مقالات و مطالعاتی که استفاده از انسولین پوستی را به عنوان یک روش ممکن برای درمان بیماران دیابتی بررسی کرده‌اند محدود می‌باشد. همچنین تلفیق هر روش فیزیکی و شیمیایی نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

تاکنون امید بخش‌ترین روش جایگزین، روش استنشاقی بوده است که از میان آنها Exubera® از طرف EMEA و FDA برای استفاده بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲ مورد تأیید قرار گرفته اما به دلیل هزینه‌های بسیار زیاد و عوارض تنفسی، مورد استقبال واقع نشده و تولید آن توسط شرکت سازنده متوقف شد.

دیگر روش‌ها نیز در حال پیشرفت هستند. اخیراً در دو روش intestinal (HIM2) و buccal (oral-lyn)، پیشرفت‌های جالبی بدست آمده است. همچنین مصرف انسولین به روش

مأخذ

1. Cefalu, W.T. Concept, strategies, and feasibility of noninvasive Insulin delivery. *Diabetes care* 2004; 27(1): 239-244.
2. Xuan B, McClellan DA, Moore R, et al. Alternative delivery of insulin via eye drops. *Diabetes Technol Ther* 2005; 7:695-8.
3. Morgan RV, Huntzicker M. Delivery of systemic regular insulin via the ocular route in dogs. *J Ocul Pharmacol Ther* 1996; 12:515-26.
4. Lassmann-Vague V, Raccach D. Alternatives routes of insulin delivery. *Diabetes Metab* 2006; 32:513-22.
5. Sayani AP, Chien YW. Systemic delivery of peptides and proteins across absorptive mucosae. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1996; 13:85-184.
6. Prausnitz MR., Mitragotri S., Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3:115-24.
7. Kanikkannan N, Kandimalla K, Lamba SS, et al. Structure-activity relationship of chemical penetration enhancers in transdermal drug delivery. *Curr Med Chem* 2000; 7:593-608.
8. Jain S, Jain P, Umamaheshwari RB, et al. Transfersomes - a novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery: development, characterization, and performance evaluation. *Drug Dev Ind Pharm* 2003; 29: 1013-26.
9. Cevc G. Transdermal drug delivery of insulin with ultradeformable carriers. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 461-74.
10. Shmona Cernea & Itamar Raz. Noninjectable methods of Insulin administration. *Drug of Today* 2006; 42(6): 405-424.
11. Lindahl A., Ungell AL., Knutson L., Lennernas H. Characterisation of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm Res* 1997; 14: 497-502.
12. Shaikh IM., Jadhav KR., Ganga S., et al. Advanced approaches in insulin delivery. *Curr Pharm Biotechnol* 2005; 6(5): 387-95.
13. Gowthamarajan K, Kulkarni G T. Oral insulin-fact or fiction? Possibilities of achieving oral delivery for insulin. *Resonance* 2003; 38-46.
14. Davgherty AL., Mrsny RJ. Regulation of the intestinal epithelial paracellular barrier. *Pharm. Sci. Technol Today* 1999; 2: 281-287.
15. King MJ, Michel D, Foldvari M. Evidence for lymphatic transport of insulin by topically applied biphasic vesicles. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55:1339-44.
16. Still JG. Development of oral insulin: progress and current status. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18: S29-S37.
17. Kipnes M, Dandona P, Tripathy D, et al. Control of postprandial plasma glucose by an oral insulin product (HIM2) in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:421-6.
18. Dorkoosh FA, verhoef J., Bochar G., et al. Development and characterization of a novel peroral peptide drug delivery system. *J Control Rel* 2001; 71: 307-318.
19. Dorkoosh FA, Brussee J., verhoef J., et al. Preparation and NMR characterization of

- superporoushydrogely (SPH) and SPH composites. *Polymer* 2000; 41:8213-8220.
20. Dorkoosh FA., Borchard G., Rafiee-Tehrani M. Evaluation of superporoushydrogely (SPH) and SPH composites; in porcine intestin ex-vivo: assessment of drug transport morphology effect, and mechanical fixation to intestinal wall. *Eur J Pharma* 2002; 53:161-166.
 21. Dorkoosh FA., Setyaningsih D., Borchard G., et al. Effects of superporous hydrogely on paracellular drug permeability and cyto toxicity studies in coco-2 cell monolayers. *Int J Pharma* 2002; 247:35-45.
 22. Cernea S, Kidron M, Wohlgelemt J, et al. Dose-response relationships of an oral insulin spray in six patients with type 1 diabetes: A single-center, randomized, single-blind, 5-way crossover study. *Clin Ther* 2005; 27: 1562-70.
 23. Cernea S, Kidron M, Wohlgelemt J, et al. Comparison of pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of single-dose oral insulin spray and subcutaneous insulin injection in healthy subjects using the euglycemic clamp technique. *Clin Ther* 2004; 26(12):2084-91.
 24. Pozzilli P, Manfrini S, Costanza F, et al. Biokinetics of buccal spray insulin in patients with type 1 diabetes. *Metabolism* 2005; 54:930-4.
 25. Guevara-Aguirre J, Guevara M., Saavedra J, et al. Oral spray insulin in treatment of type 2 diabetes: a comparison of efficacy of the oral spray insulin (Oralin) with subcutaneous (SC) insulin injection, a proof of a concept study. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20: 472-8.
 26. Modi P, Mihic M, Lewin A. The evolving role of oral insulin in the treatment of diabetes using a novel Rapid Mist® System. *Diabetes Metab Res Rev* 2002;18(Suppl 1):s38-s42.
 27. Coelho, J. F., P. Ferreira, et al. "New approaches in drug delivery systems: application for diabetes treatment." *Infect Disord Drug Targets* 2008; 8(2): 119-28.
 28. Owens DR, Zinman B, Bolli G. Alternative routes of insulin delivery. *Diabet Med* 2003; 20(11): 886-98.
 29. Turker S, Onur E, Ozer Y. Nasal route and drug delivery systems. *Pharm World Sci* 2004; 26: 137-42.
 30. Warshosaz J, Sadrai H, Heidari A. Nasal delivery of insulin using bioadhesive chitosan gels. *Drug Deliv* 2006; 13: 31-8.
 31. Coates,P.A.,Ismail,I.S.,Luzio,S.D.et al. Intranasal insulin : The effects of three dose regimens on postprandial glycaemic profiles in type II diabetic subjects. *Diabet Med* 1995; 12: 235-9.
 32. Salzman,R.,Manson,J.E.et al. Intranasal aerosolized insulin. Mixed-meal studies and long-term use in type I diabetes. *N Engl J Med* 1985; 312: 1078-84.
 33. Frauman,A.G.,et al .Long-term use of intranasal insulin in insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Care* 1987; 10: 573-8.
 34. Hilsted,J.,et al. Intranasal insulin therapy: The clinical realities. *Diabetologia* 1995; 38: 680-4.
 35. Lalej-Bennis D, Boillot J, Bardin C, et al. Efficacy and tolerance of intranasal insulin administered during 4 months in severely hyperglycaemic type 2 diabetic patients with oral drug failure: a cross over study. *Diabet Med* 2001; 18: 614-8.
 36. Exubera package insert. FDA website. January 2006 (information available online at: access data. fda.gov/scripts/cder/foi/label/2006/021868 lbl.pdf).
 37. Cefalu WT, Skyler JS, Kourides IA, et al. Inhaled insulin Study Group. Inhaled human insulin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 2001; 134:203-7.
 38. Rave K, Bott S, Heinemann L, et al. Time-action profile of inhaled insulin in comparison with subcutaneously injected insulin lispro and regular human insulin. *Diabetes Care* 2005; 28:1077-82.
 39. Quattrin T, Belanger A, Bohannon NJ, et al. Exubera phase III Study Group. Efficacy and safety of inhaled insulin (Exubera?) compared with subcutaneous insulin therapy in patients with type 1 diabetes: results of a 6-month, randomized comparative trial. *Diabetes Care* 2004; 27:2622-7.
 40. Skyler JS, Weinstock RS, Raskin P. Inhaled insulin Phase III Type 1 Diabetes Study Group. Use of inhaled insulin in a basal/bolus insulin regimen in type 1 diabetic subjects: a 6-month, randomized, comparative trial. *Diabetes Care* 2005; 28:1630-5.
 41. Freemantle N, Blonde L, Duhot D, et al. Availability of inhaled insulin promotes greater perceived acceptance of insulin therapy in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28:427-8.
 42. Ceglia L, Lau J, and Pittas A G. Meta-Analysis: Efficacy and Safety of Inhaled Insulin Therapy in Adults with Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med* 2006; 145:665-675.
 43. Siekmeier R. and Scheuch G. Inhaled insulin--does it become reality? *J Physiol Pharmacol* 2008; 59 (Suppl 6): 81-113.