

a cura di Giuseppe Defeudis

Policlinico Universitario Campus Bio-Medico di Roma

Insuline oltre l'insulina *Insulins beyond insulin*

Pierpaolo Falcetta, Monia Garofolo, Stefano Del Prato

Dipartimento di Scienze Cliniche e Traslazionali, U.O. di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

DOI: <https://doi.org/10.30682/ildia2201f>

ABSTRACT

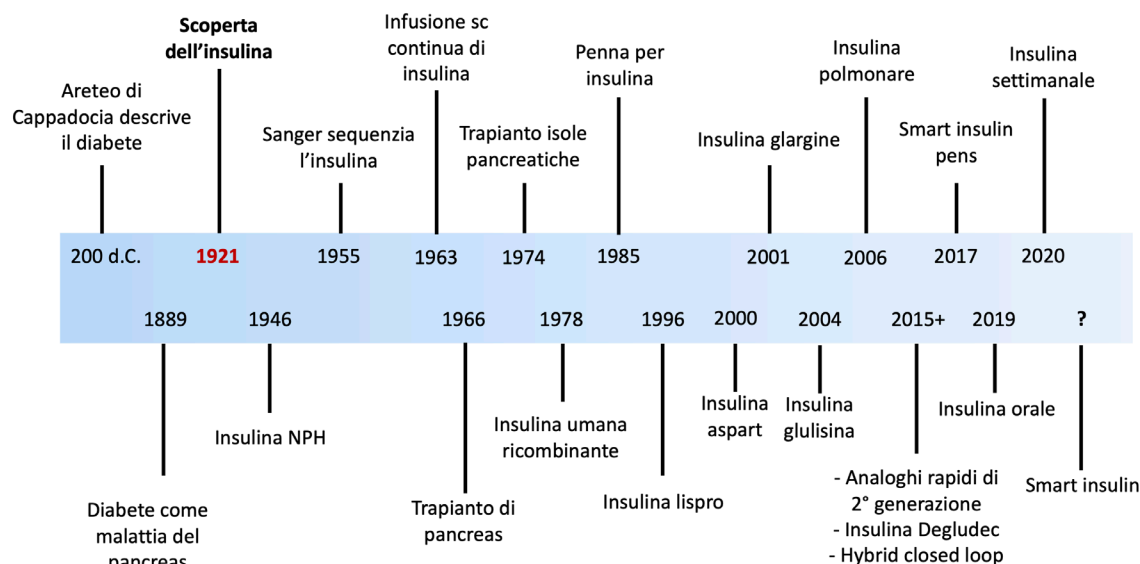
The discovery of insulin in 1921 is one of the greatest achievement in the history of medicine and a pivotal point for the whole scientific community. The first century of insulin as therapy was scored by the continuous research for better formulations, which is now more active than ever. Once-weekly insulins are ready to be marketed, whereas glucose-responsive “smart” insulins have shown promising results in preliminary studies. New technologies can further improve the insulin therapy in terms of efficacy and safety and, therefore, the quality of life of people with diabetes.

KEYWORDS

Insulin; type 1 diabetes, type 2 diabetes, smart insulin, artificial intelligence, evolution.

PREMESSA

La scoperta dell'insulina nel 1921 è stata uno degli avvenimenti cardine della storia della medicina ed un momento cruciale per tutta la comunità scientifica. Grazie all'assiduo lavoro dei ricercatori negli anni che hanno preceduto la scoperta dell'insulina e a quello del gruppo canadese un secolo fa, la vita delle persone affette da diabete è cambiata in maniera radicale. L'insulina è stato il primo ormone ad essere purificato per l'uso umano e sequenziato nella sua sequenza amminoacidica, il primo ad essere riprodotto in laboratorio con la tecnica del DNA ricombinante, infine il primo ad essere modulato dal punto di vista farmacocinetico per mezzo di modifiche molecolari. Per tutti questi motivi la scoperta dell'insulina rappresenta ancora oggi un punto chiave del progresso scientifico. L'evoluzione della molecola non si è tuttavia limitata alle mere caratteristiche chimico-fisiche, ma anche e soprattutto nella sua modalità di somministrazione. Le insuline a somministrazione settimanale saranno presto disponibili sul mercato e numerosi studi preclinici e clinici hanno documentato il potenziale delle cosiddette insuline intelligenti (*smart insulins*), molecole in grado di modificare autonomamente la propria attività metabolica sulla base dei livelli glicemici. Il primo secolo dell'insulina come terapia del diabete mellito è stato scandito dall'incessante ricerca – ancora in corso – di formulazioni in grado di mimare la fisiologica secrezione pancreatiche. L'applicazione delle nuove tecnologie alla terapia insulinica potrebbe ulteriormente migliorarne la sicurezza e l'efficacia, garantendo una migliore qualità della vita nei soggetti con diabete.

Figura 1 ♦ **Pietre miliari della diabetologia**

INTRODUZIONE

Il 2021 ha segnato il primo centenario della scoperta dell'insulina, un vero e proprio traguardo nella storia della medicina, uno dei più importanti successi scientifici del XX secolo ed uno dei primi esempi di progresso medico in grado di cambiare la (drammatica) storia naturale di una malattia. Nonostante Toronto sia il luogo cardine di questa rivoluzione, come spesso accade, i risultati del gruppo di ricerca canadese si sono basati sulle intuizioni e le scoperte di numerosi altri scienziati che li hanno preceduti. Potremmo pertanto definire la scoperta dell'insulina non solo come il culmine di questi sforzi, ma anche come il punto di inizio di tutta una serie di incredibili innovazioni nel campo della medicina, della diabetologia e della farmacologia. L'insulina è stato il primo ormone ad essere purificato per l'uso umano, il primo ad essere sequenziato e sintetizzato con la tecnica del DNA ricombinante (rDNA), ed il primo ad essere manipolato strutturalmente per modificarne le proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche. In questa rassegna discuteremo brevemente le acquisizioni scientifiche precedenti alla scoperta dell'insulina, analizzando il ruolo che l'industria farmaceutica ha avuto nello sviluppo e l'evoluzione di questa molecola e le tappe fondamentali che hanno portato alla terapia insulinica contemporanea. Infine, cercheremo di illustrare brevemente ciò che il futuro potrà ancora riservare. Nella figura 1 sono schematicamente rappresentate le tappe fondamentali della diabetologia dalla prima descrizione completa del diabete ad oggi.

LA SCOPERTA DELL'INSULINA: LA STORIA DI UN MIRACOLO

L'insulina è certamente il trattamento del diabete mellito più consolidato. Risulta pertanto difficile per un diabetologo del XXI secolo poter immaginare lo scenario di oltre un secolo fa. Prima della scoperta dell'insulina il diabete era una condizione con prognosi infausta e associata ad una scarsa qualità di vita. Per poter prolungare la vita dei soggetti con diabete, i medici americani Frederick Allen ed Elliot Joslin avevano promosso regimi dietetici a ridottissimo introito calorico (1). L'inedia e la malnutrizione diventarono presto il trattamento d'elezione anche nei bambini con diabete nel tentativo di ridurre il rischio dell'iperglicemia (2). Il diabete e le sue drammatiche conseguenze erano note da secoli ma la terapia orfana. Le prime tracce di descrizione del diabete si possono già trovare in antichi testi della medicina tradizionale Hindu e Cinese risalenti ad oltre 5000 anni fa (3). Dovremo tuttavia attendere Areteo di Cappadocia (II secolo

d.C.) per avere una prima descrizione completa di tale condizione (4). Nel XVIII e XIX secolo, i medici cominciarono a comprendere che la riduzione dell'assunzione di carboidrati e l'aumento relativo del consumo di lipidi potesse in qualche modo aiutare a controllare i sintomi del diabete. Il medico francese Apollinaire Bouchardat, nel corso dell'assedio di Parigi del 1870, osservò che i soggetti con diabete sottoposti al digiuno forzato mostravano un miglioramento della glicosuria e che l'attività fisica migliorava le condizioni generali di tali individui. Bouchardat cominciò quindi a promuovere il calo ponderale e l'attività fisica in tutti i suoi pazienti con diabete, definendo *ante litteram* le basi dell'approccio contemporaneo al trattamento del diabete di tipo 2 (DMT2) (5). Nel 1869 lo studente di medicina Paul Langerhans (1847-1888) descrisse nella sua tesi di dottorato la presenza di piccole strutture poligonali contenute all'interno del tessuto pancreatico (6), anche se la funzione di tali strutture e l'importanza della scoperta rimasero a lui del tutto ignoti. La scoperta della relazione tra pancreas e diabete secondo alcuni sarebbe stata quasi casuale quando Oskar Minkowski e Joseph von Mering, due brillanti chirurghi, nel 1890 nel corso di studi sull'assorbimento dei grassi in cani pancreasectomizzati, notarono che le urine degli animali privi di pancreas attiravano nugoli di mosche. Qui la storia si fonde con la leggenda come ben descrisse Denis McGarry:

Legend has it that on a momentous day in 1889 Oskar Minkowski noticed that urine collected from his pancreatectomized dogs attracted an inordinate number of flies. He is then said (by some) to have tasted the urine and to have been struck by its sweetness. From this simple but astute observation, he established for the first time that the pancreas produced some entity essential for control of the blood sugar concentration, which when absent, resulted in diabetes mellitus (7).

Da quel momento iniziò un'incessante ricerca della sostanza prodotta dal pancreas e ritenuta responsabile del diabete. Il medico tedesco Georg L. Zülzer si avvicinò molto alla scoperta dell'insulina nel corso dei 12 anni in cui si concentrò sulla produzione di estratti pancreatici per il trattamento del diabete. Uno di questi estratti di pancreas canino, che Zülzer chiamò "Acomatrol", fu iniettato in un paziente diabetico con iniziale beneficio. Il soggetto andò tuttavia incontro a morte una volta terminato lo scarso quantitativo di estratto disponibile. La comunità scientifica non fu, peraltro, convinta – vista la scarsa riproducibilità dell'azione del preparato e dalla sua debole capacità ipoglicemizzante – così che Zülzer abbandonò il filone di ricerca (8). Nell'agosto del 1921, Nicolae Constantin Paulescu, professore di fisiologia all'Università di Bucarest, dopo aver osservato che l'estratto pancreatico migliorava il controllo glicemico in cani pancreasectomizzati, pubblicò i dati nella rivista *Archives Internationales de Physiologie*. L'estratto, denominato "pancreina", ottenne il brevetto l'anno successivo (9). La pancreina fu testata in due pazienti con diabete ma, a causa della ridotta purezza, determinò la comparsa di notevoli effetti collaterali. Nell'estate del 1920, a Toronto, il Dr. Frederick G. Banting, un giovane medico di 28 anni, ispirato da un articolo pubblicato su *Surgery, Obstetrics and Gynecology* che riportava la comparsa di atrofia pancreatica in seguito all'ostruzione del dotto da parte di un calcolo, cercò di riprodurre tale condizione legando il dotto pancreatico. L'idea fu condivisa con il prof. John J.R. MacLeod che, incuriosito, nel maggio 1921 offrì a Banting un posto come ricercatore per proseguire con i suoi esperimenti. Insieme a Charles Best, uno studente di soli 22 anni, cominciarono a somministrare l'omogeneizzato del tessuto pancreatico residuo dopo la legatura del dotto in un cane pancreasectomizzato di nome Marjorie, riuscendo a mantenerlo in vita per 70 giorni (10). Bisognava tuttavia purificare l'estratto, compito portato abilmente a termine dal biochimico James B. Collip che nel frattempo si era unito al team di ricercatori. Nel gennaio del 1922 l'estratto di pancreas fu somministrato all'allora quattordicenne Leonard Thompson con scarsi risultati. I risultati furono invece ben più evidenti quando la seconda volta fu somministrato l'estratto purificato da Collip. I livelli di glicemia del giovane si ridussero drasticamente e la chetonuria scomparve. Le sue condizioni cliniche migliorarono rapidamente e Leonard, grazie alla nuova scoperta, visse con il diabete per altri 13 anni (11). I risultati di Banting e Best furono presentati al congresso dell'American Society of Physiology il 30 dicembre del 1921. Nel 1923 Banting e MacLeod furono insigniti del premio Nobel per la scoperta dell'insulina, che fu prontamente condiviso con Best e Collip (12).

Una volta che la notizia si diffuse in tutto il mondo scientifico, la richiesta d'insulina aumentò rapidamente. Nel maggio 1922 l'Università di Toronto ed Eli Lilly arrivarono ad un accordo che diede a quest'ultima tutti i diritti per la produzione e la distribuzione dell'insulina a medici e ospedali selezionati (13).

La scoperta dell'insulina fu un rivoluzionario passo avanti nella cura del diabete, il punto di inizio di un secolo fatto di scoperte affascinanti e nuove opportunità per milioni di persone affette da questa malattia.

LA PURIFICAZIONE DELL'INSULINA

A partire dal 1921 i ricercatori intensificarono i loro sforzi al fine di rendere gli estratti insulinici sempre più puri ed efficaci. Il preparato di Banting e Best aveva una durata d'azione di circa 6 ore, si associava quindi ad ampie fluttuazioni glicemiche. All'inizio del 1923, Lilly riusciva già a produrre una ragguardevole quantità di insulina anche se i lotti avevano una grande variabilità in termini di concentrazione dell'ormone (10). George Walden, a capo dei laboratori chimici di Eli-Lilly, sviluppò nel dicembre 1922 la precipitazione isoelettrica, un'innovativa tecnica in grado di produrre insulina fino a 100 volte più stabile e pura. Nel 1923 il professore di fisiologia August Krogh, già premio Nobel per la medicina, incontrò Banting e Best spinto dal fatto che la moglie era affetta da diabete e ricevette l'autorizzazione dall'Università di Toronto a portare in Scandinavia l'insulina. Nacque così il Nordisk Insulin Laboratory, che grazie al contributo di Hans Christian Hagedorn cominciò presto a produrre e distribuire insulina in Europa (10). Le prime formulazioni d'insulina avevano un effetto ipoglicemizzante breve e richiedevano più iniezioni giornaliere, quindi uno dei primi obiettivi dei ricercatori fu quello di trovare un modo per estendere la durata d'azione dell'ormone. La soluzione arrivò da Hagedorn e colleghi che avevano osservato come l'aggiunta di protamina all'insulina ne prolungasse l'effetto fino a 48h (14). Nacque così l'insulina NPH (Neutral Protamine Hagedorn), la prima insulina ad azione lenta. Lo sviluppo di queste nuove insuline ha dato l'input allo sviluppo di regimi terapeutici più complessi e molto simili a quello che oggi definiremmo *basal bolus*, con formulazioni a lunga durata d'azione per il controllo glicemico notturno e interprandiale, e da insuline ad azione rapida per prevenire le escursioni glicemiche postprandiali. Nel 1955 Sanger riuscì a sequenziare la struttura primaria dell'insulina e nel 1967 Chance e colleghi fecero lo stesso con la proinsulina. L'avvento della cristallografia a raggi X permise di descrivere la struttura tridimensionale dell'insulina due anni dopo. Ancora una volta la ricerca sull'insulina faceva da supporto all'apertura di nuovi scenari nell'ambito della biologia e della farmacologia. Con l'ingegneria genetica agli albori, la sintesi dell'insulina umana ricombinante era molto vicina.

LA SINTESI DELL'INSULINA NELL'ERA DELL'INGEGNERIA GENETICA

L'insulina di origine animale era altamente immunogena. Il perfezionamento del processo di purificazione ha portato allo sviluppo delle insuline animali monocomponenti che hanno permesso di ridurre il rischio di fenomeni di sensibilizzazione. La più grande rivoluzione si ebbe tuttavia con la sintesi dell'insulina umana ricombinante. Fu nel 1978 che David Goeddel e colleghi riuscirono, nei laboratori Genentech, a sintetizzare un'insulina con la stessa identica sequenza amminoacidica del peptide umano nativo attraverso l'espressione genica nell'*Escherichia coli* delle catene A e B e alla loro successiva combinazione (15). L'insulina umana ricombinante possiede numerosi vantaggi rispetto a quella animale risultando immunologicamente tollerata oltre a non avere limiti virtuali di produzione.

L'EVOLUZIONE DELLA MOLECOLA: GLI ANALOGHI INSULINICI AD AZIONE RAPIDA

Già a partire dai primi anni Ottanta, la diffusione delle insuline porchine monocomponente prima e dell'insulina ricombinante umana dopo contribuì a ridurre i fenomeni allergici e di lipoatrofie immuno-mediate associati alla terapia insulinica. Tutto ciò ha permesso di intensificare i regimi terapeutici pur mantenendo un certo grado di sicurezza, come si è osservato in studi clinici determinanti quali il Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) (16) e lo United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) (17). I risultati di questi trial hanno permesso di sottolineare

l'importanza del controllo glicemico nel prevenire e rallentare la comparsa delle complicanze croniche del diabete. Tuttavia, si comprese fin da subito come l'intensificazione della terapia insulinica si associasse ad un maggior rischio di ipoglicemia, soprattutto a causa della difficoltà di sincronizzazione tra il picco di azione insulinica e l'assorbimento post-prandiale dei carboidrati (18). Una svolta in questo senso si ebbe nel 1996, quando Richard DiMarchi e collaboratori svilupparono il primo analogo rapido dell'insulina presso i laboratori Lilly (19). L'intuizione alla base di questo importante sviluppo derivò dallo studio di un ormone strutturalmente simile all'insulina, l'*insulin-like growth factor 1* (IGF-1). L'IGF-1, come l'insulina, tende ad aggregarsi in esameri ma con una forza di coesione molto inferiore rispetto all'ormone pancreatico e con una più rapida dissociazione in monomeri. I due ormoni differiscono esclusivamente per due residui amminoacidici in posizione 28 e 29 della catena B che, per quanto riguarda l'IGF-1, è la sequenza lisina-prolina (Lys-Pro) e per l'insulina umana prolina-lisina (Pro-Lys). Una "semplice" inversione di questi due aminoacidi portò allo sviluppo dell'analogo rapido Lispro (20), in grado di dissociarsi molto più velocemente rispetto all'insulina umana ricombinante, riducendo così in maniera significativa le escursioni glicemiche post-prandiali e il rischio di ipoglicemia (21). Applicando lo stesso principio, altri due analoghi rapidi furono sintetizzati negli anni successivi: l'insulina Aspart e l'insulina Glulisina (22-23). Nonostante i notevoli progressi in termini farmacocinetici, gli analoghi rapidi necessitano ancora di almeno 10 minuti per raggiungere il circolo ematico ed espletare l'effetto ipoglicemizzante. Per ridurre la latenza d'azione è stata proposta la co-somministrazione di questi analoghi con enzimi quali la ialuronidasi (rHuPH20), in grado di potenziarne la diffusione e l'assorbimento sottocutaneo (24). Tuttavia, queste formulazioni non hanno mai superato le sperimentazioni di fase 3 e la loro produzione è stata interrotta. Più recentemente sono state sviluppate nuove formulazioni di insulina aspart (Fiasp) ed insulina lispro [ultra rapid lispro (URLi) e biochaperone lispro] che, grazie all'aggiunta di alcuni eccipienti che ne favoriscono l'assorbimento, hanno una velocità d'azione superiore agli analoghi rapidi da cui derivano. Fiasp è già disponibile da un paio di anni in Italia, mentre URLi è stata recentemente approvata dall'Agenzia Italiana del Farmaco (25). Nonostante questi nuovi analoghi possano virtualmente offrire un miglior controllo delle escursioni glicemiche post-prandiali, i risultati degli studi attualmente a disposizione non hanno evidenziato un netto miglioramento del controllo glicemico complessivo (24). Questo è verosimilmente imputabile alla loro ridotta durata d'azione e alla necessità di analoghi lenti che garantiscano un controllo glicemico ottimale nei periodi di digiuno inter-prandiali e notturni.

L'EVOLUZIONE DEGLI ANALOGHI INSULINICI AD AZIONE LENTA

L'NPH è stata per molto tempo l'insulina a lenta durata d'azione maggiormente utilizzata per il trattamento del diabete, nonostante il suo effetto si attesti intorno alle 12-18h, con uno spiccato effetto picco - e conseguente rischio di ipoglicemia - e una efficacia spesso non sufficiente a coprire l'intera giornata (26). Gli sforzi si sono quindi ben presto concentrati sullo sviluppo di analoghi dell'insulina a lunga durata d'azione che avessero un alto grado di riproducibilità. Nel 2001 l'insulina glargine (IGlar) fu introdotto negli USA (27). IGlAr era il risultato della sostituzione di una glicina con un'asparagina in posizione A-21 della molecola dell'insulina nativa e dall'aggiunta di due arginine in posizione B-30. Queste variazioni della sequenza amminoacidica comportano uno spostamento del punto isoelettrico verso un pH acido, così che nell'ambiente tendenzialmente basico del tessuto sottocutaneo sede di inoculo la molecola tenda a precipitare. Il risultato è un'immissione in circolo lenta e progressiva che ne assicura una lunga durata d'azione (circa 24h), un minor picco e una minore variabilità rispetto all'insulina-NPH (28-29). Il secondo analogo lento, l'insulina detemir, fu introdotta nel 2005. La sintesi dell'insulina detemir avviene attraverso la delezione (des-30) della treonina in posizione 30 della catena B della molecola dell'insulina umana (B30) e l'acilazione mediante aggiunta con legame covalente di un acido grasso a 14 atomi di carbonio (acido miristico) al gruppo ϵ -aminico della lisina B29 che garantisce un elevato legame con l'albumina. Grazie a queste modifiche l'insulina detemir ha una durata d'azione che non supera le 18-20h richiedendo, in alcuni casi, una doppia somministrazione giornaliera (30).

I progressi tecnico-scientifici hanno portato più recentemente allo sviluppo di molecole a più lunga durata d'azione. L'insulina degludec (IDeg) è un analogo lento caratterizzato da numerose modificazioni della struttura primaria e arricchimento del preparato con fenolo e zinco che permette alla molecola di avere un'azione superiore alle 24h (31). È

Tabella 1 ♦ **Dati farmacocinetici delle insuline (non premiscelate) attualmente in commercio**

INSULINA	NOME COMMERCIALE (AZIENDA)	ONSET	PICCO	DURATA DELL'EFFETTO IPOGLICEMIZZANTE	EMIVITA
Ultra rapide					
Faster Aspart	FIAsp (Novo Nordisk)	4 min	60 min	3-5 h	60-70 min
URLi	Lyumjev (Lilly)	2 min	40-60 min	3-5 h	44 min
Rapide					
Lispro	Humalog (Lilly)	5-15 min	30-90 min	3-4 h	60 min
Aspart	Novolog/Novorapid (Novo Nordisk)	10-20 min	40-50 min	3-5 h	80 min
Glulisine	Apidra (Sanofi)	10-30 min	60 min	4 h	40 min
Tecnosphere	Afrezza (MannKind Corp.)	5-10 min	15 min	3-4 h	28-39 min
Breve durata d'azione					
Insulina umana	Humulin R (Lilly) Actrapid (Novo Nordisk) Insuman (Sanofi)	30 min	2-4 h	6-8 h	1.5 h
Intermedie					
NPH	Humulin I (Lilly) Protaphane (Novo Nordisk)	1-2 h	3-8 h	12-18 h	4.4 h
Lente					
Detemir	Levemir (Novo Nordisk)	1.6 h	-	8-20 h	5-7 h
Glargine U100	Lantus (Sanofi) Abasaglar (Lilly)	1-2 h	-	11-24 h	12 h
Glargine U300	Toujeo (Sanofi)	6 h	-	Up to 30 h	19 h
Degludec	Tresiba (Novo Nordisk)	1 h	-	>40 h	23-27 h

inoltre disponibile una nuova formulazione più concentrata di IGLar (Glargine 300 U/ml). La maggiore concentrazione permette un rilascio più lento della molecola dal sito d'iniezione, con profilo d'azione più piatto e un effetto più prolungato rispetto a IGLar 100, raggiungendo una durata fino a 30 ore allo stato stazionario (32). Questa ultima generazione di insuline lente ha permesso di ridurre ulteriormente il rischio ipoglicemia, soprattutto nelle ore notturne. Non meno importante, i più recenti analoghi hanno permesso l'introduzione di regimi terapeutici più flessibili, con ricadute importanti sulla qualità della vita delle persone con diabete: le insuline rapide possono ora essere somministrate poco prima del pasto o, se necessario, dopo il pasto, mentre gli analoghi lenti possono essere somministrati con intervalli che vanno da 8 a 40h, senza compromettere il controllo metabolico o la sicurezza in termini di ipoglicemia (33). La ricerca è attualmente focalizzata su analoghi lenti con durata d'azione ancora maggiore e, attualmente, due insuline settimanali sono in via di sviluppo: l'insulina basale FC (BIF) e l'insulina icodec (34). Nel primo caso, per aumentarne l'emivita è stato sfruttato il meccanismo del riciclo metabolico delle immunoglobuline tramite recettore FcRn, processo che fisiologicamente mantiene i livelli di IgG sieriche stabili (35). I risultati preliminari hanno mostrato un effetto sovrapponibile agli altri analoghi lenti in termini di controllo glicemico, con durata d'azione in grado di protrarsi fino a 10 giorni (36). L'insulina icodec invece, grazie alla sostituzione di tre residui aminoacidici e l'aggiunta

di una catena acilata di acidi grassi, riesce a legarsi in maniera stabile ma reversibile all'albumina, ha una minore affinità per il recettore insulinico, una ridotta clearance recettore-mediata ed è meno suscettibile alla degradazione enzimatica. Questa molecola è in una fase di sviluppo più avanzato e, nei soggetti con DMT2, ha dimostrato di avere un'efficacia sovrapponibile ad IGLar sia in termini di riduzione di HbA1c che di rischio di ipoglicemia (37-38).

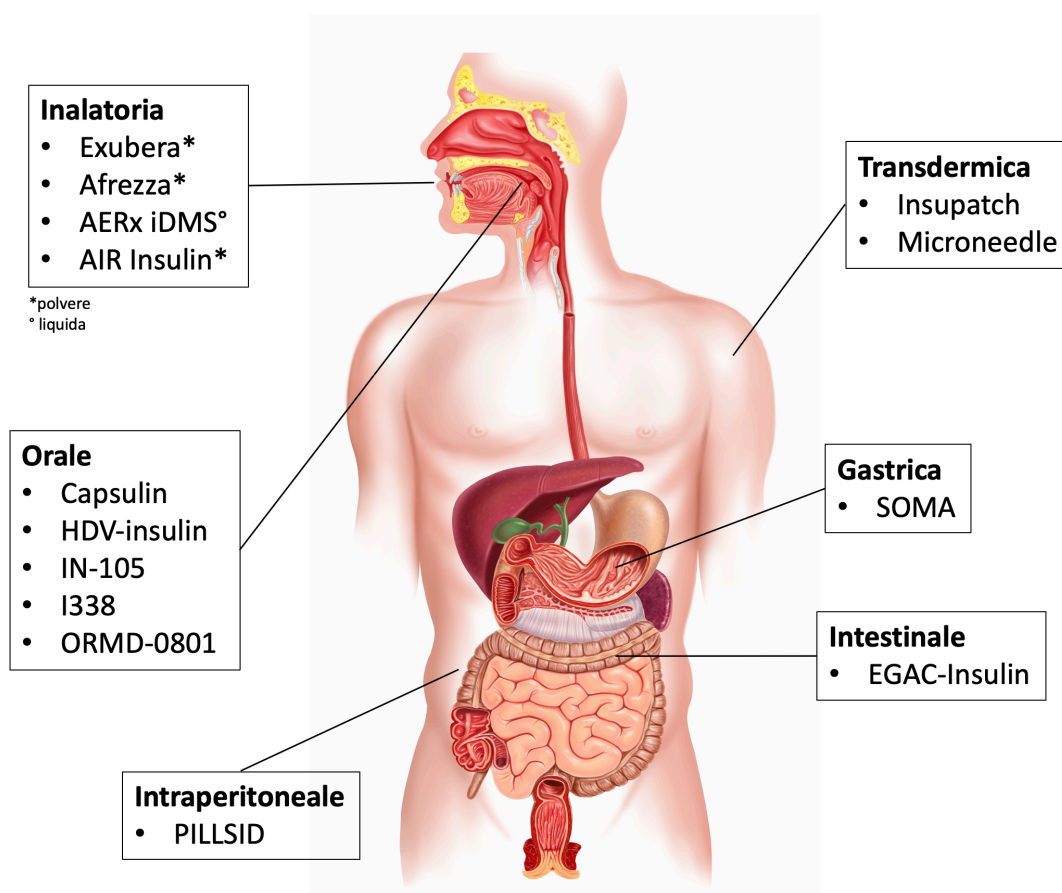
Dal momento della sua scoperta, l'insulina è stata manipolata in termini di farmacocinetica e farmacodinamica, permettendo lo sviluppo di molecole sempre più efficaci, riproducibili e sicure (Tab. 1). Nel corso di questo primo secolo l'insulina ha salvato le vite di milioni di persone con diabete, che oggi possono convivere più serenamente con la loro condizione. Oggi è possibile raggiungere livelli ottimali di controllo glicemico riducendo al minimo il rischio di eventi ipoglicemici e di comparsa o peggioramento delle complicanze del diabete. L'evoluzione dell'insulina tuttavia non si è limitata al perfezionamento della molecola; anche la sua modalità di somministrazione è cambiata radicalmente nel corso di un secolo. Tradizionalmente iniettata con ago e siringa, nel 1985 venne introdotta la penna, una svolta epocale del *diabetes care* che ha permesso di migliorare l'aderenza alla terapia e di ridurre gli errori nella somministrazione dell'insulina (39). Da semplici sistemi di iniezione dell'insulina, queste penne si sono rapidamente evolute in sistemi intelligenti (*smart pens*). Alcuni dispositivi sono già in grado di memorizzare le dosi d'insulina somministrate e il momento della somministrazione, mentre nel prossimo futuro potranno supportare il processo decisionale del medico e della persona con diabete analizzando e integrando dati antropometrici e variabili cliniche, garantendo una corretta titolazione dell'insulina basale, la conta dei carboidrati e fornendo una costante educazione terapeutica. Le nuove penne, grazie anche ad una connettività integrata, potranno significativamente migliorare l'auto-gestione del diabete, soprattutto nelle popolazioni più delicate quali quelle dei giovani e degli anziani (40).

IL FUTURO DELLA TERAPIA INSULINICA

Le formulazioni di insulina diverranno sempre più sofisticate e le penne più intelligenti, ciononostante la terapia insulinica continua ad essere somministrata per via sottocutanea. Sin dalla scoperta dell'insulina, l'iniezione è sempre stata vissuta come un ostacolo e uno stigma per i soggetti con diabete stimolando a esplorare vie alternative per la sua somministrazione (Fig. 2).

Già nel 1925 Gannslén pubblicò i risultati relativi all'effetto dell'insulina somministrata per via inalatoria attraverso un nebulizzatore in vetro (41). Per quanto già concettualmente validata a soli 5 anni dalla sua scoperta, ci sono voluti più di 80 anni prima che l'insulina inalatoria venisse approvata per l'uso umano. Nel 2006 venne reso disponibile un sistema per la somministrazione polmonare di insulina in polvere, presto ritirato dal commercio per alcuni dubbi sulla sicurezza dell'insulina inalata e la scarsa praticità dello strumento (42). Vari tentativi di sviluppo di sistemi per l'inalazione dell'insulina più pratici sono stati tentati ma al momento solo l'insulina inalatoria TecnoSphere è disponibile e limitata al mercato americano (43). La via inalatoria non è l'unica via alternativa che è stata esplorata (Fig. 1). Delle tante, la somministrazione orale rimane ad oggi la più affascinante per via della facilità d'uso e dell'assorbimento dell'insulina direttamente nel circolo portale così come avviene fisiologicamente per la secrezione endogena dell'ormone. Tuttavia, l'assorbimento dell'insulina nel tratto gastrointestinale è ostacolato da barriere fisiologiche quali le variazioni del pH e la degradazione enzimatica. Per superare queste limitazioni due approcci sono stati ipotizzati. Il primo prevede l'incapsulamento dell'insulina in capsule resistenti al pH acido gastrico ma degradabili nell'ambiente basico intestinale dove la capsula può rilasciare dei *micropatch* carichi con insulina, che una volta adesi alla parete del lume intestinale potranno veicolare l'ormone attraverso l'epitelio (44). Questo approccio è stato utilizzato per l'insulina orale ORMD-0801 (45), per la quale esistono recenti evidenze di efficacia e di sicurezza, e per l'insulina orale Capsulin. Anche in questo caso recenti studi ne hanno validato l'efficacia così che il programma di sviluppo progredirà, con buona probabilità, verso la fase 3 (46).

Un secondo approccio è quello basato su tecnologie atte a facilitare l'assorbimento dell'insulina attraverso la mucosa gastrica (47). L'insulina orale I338 (I338) è un analogo lento dell'insulina co-formulato con sodio caprato, un facilitatore dell'assorbimento. La sequenza aminoacidica di I338 è stata modificata per ridurre la suscettibilità alla degradazione

Figura 2 ◆ **Principali vie di somministrazione alternative dell'insulina**

proteolitica nel tratto gastrointestinale mentre il sodio caprato promuove l'assorbimento modulando le *tight junction* dell'epitelio gastrico e aumentando la fluidità della membrana apicale delle cellule parietali. Nonostante questa formulazione abbia mostrato promettenti risultati in uno studio di fase 2 (48), la scarsissima biodisponibilità della molecola non l'ha resa commercialmente sostenibile e la sperimentazione è stata interrotta. Un approccio innovativo e più recente è rappresentato dal SOMA (Self-Orienting Millimeter-scale Applicator). Si tratta di una capsula caricata con insulina e dotata di un ago protetto da un disco carboidratico. Questa capsula ha la proprietà di auto orientarsi così da aderire con la base alla superficie gastrica. L'ambiente acido dissolve il disco protettivo permettendo all'ago innescato da una micromolla di iniettare l'insulina attraverso lo strato epiteliale (49).

La terapia insulinica sta quindi facendo leva sulle possibilità offerte dal progresso tecnologico con l'obiettivo di rendere più semplice la terapia. Questi tipi di somministrazione dell'insulina, peraltro, non saranno necessariamente in grado di ricostruire le fisiologiche variazioni delle concentrazioni dell'insulina nel corso delle 24 ore, un obiettivo perseguito con ostinazione sin dagli albori della terapia insulinica. Un siffatto obiettivo non può infatti essere perseguibile se non si considera il fine e rapido feedback esistente tra variazione dei livelli glicemici e secrezione dell'ormone. Questo feedback è oggi più facilmente riproducibile con lo sviluppo dei sistemi di infusione sottocutanea di insulina connessi a sensori per la misurazione in continuo della glicemia (*closed-loop*), cioè il cosiddetto pancreas artificiale (50). Per quanto questi sistemi siano già tecnologicamente avanzati, sono oggetto in ciascuna delle loro componenti a una continua evoluzione. La misurazione in continuo della glicemia richiede oggi regolari calibrazioni mentre il prossimo futuro dovrebbe offrire sistemi auto calibranti sollevando ancor più la persona con diabete dal fastidio della misurazione su sangue capillare della glicemia. Il valore della glicemia misurata regola attraverso un algoritmo di

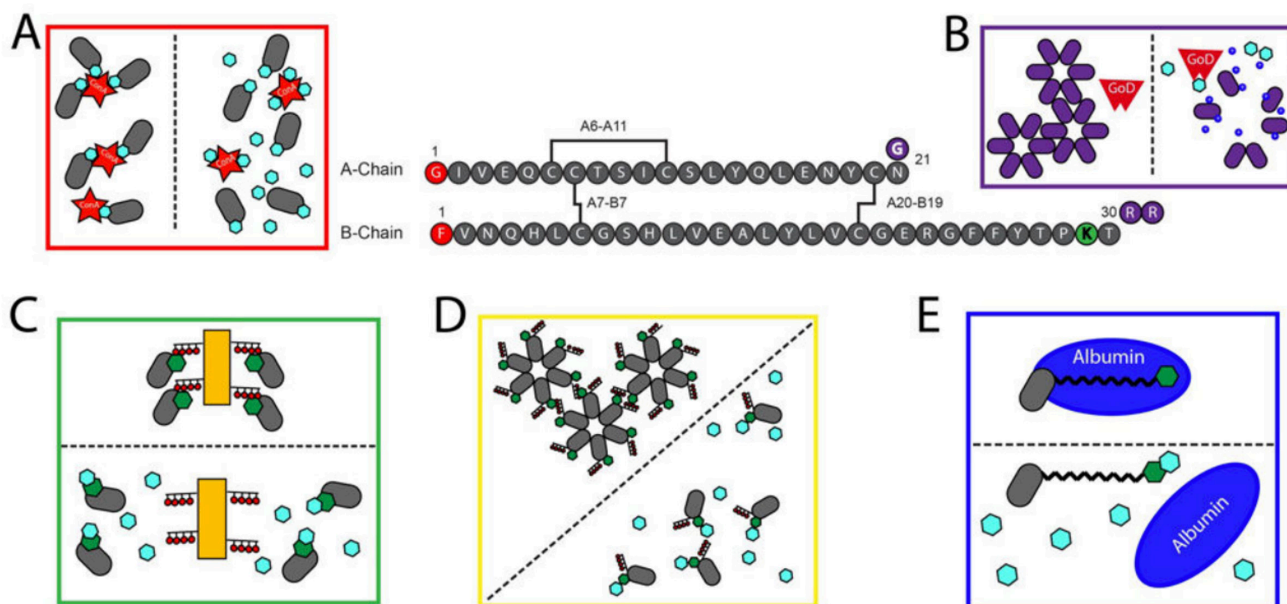
controllo l'infusione di insulina. Questi algoritmi possono però evolvere in sistemi capaci di incorporare informazioni specifiche del singolo soggetto (*machine learning*) adattandosi quindi alle caratteristiche individuali. L'infusione di insulina avviene oggi ancora per via sottocutanea risultando in concentrazioni di insulina più elevate di quelle fisiologiche in quanto non viene rispettato il fisiologico gradiente porto-sistemico. Già in passato sono stati utilizzati sistemi di somministrazione per via intraperitoneale, sostanzialmente poco utilizzati per i rischi di infezione e soprattutto per la necessità di accedere al loro rifornimento attraverso la parete addominale. Per risolvere queste limitazioni sono stati inizialmente testati, nell'animale da esperimento, sistemi di infusione intraperitoneali ricaricabili dall'esterno con insulina mediante capsule magnetiche capaci di ancorarsi nel punto dove è posizionata la pompa garantendo il riempimento del serbatoio insulinico attraverso puntura transmurale (51).

Soluzioni come quelle appena descritte potrebbero rappresentare una vera e propria rivoluzione soprattutto per il trattamento del diabete di tipo 1. Per gli individui con DMT2, sistemi così raffinati potrebbero essere non così necessari o per lo meno ridondanti. Tuttavia, anche nei soggetti con diabete di tipo 2, nonostante l'evoluzione della terapia farmacologica, l'insulina rimarrà sempre una opportunità terapeutica e, a volte, una vera e propria necessità. In questo contesto, un sistema "intelligente" in grado di modulare l'attività dell'insulina in base allo stato metabolico potrebbe offrire un'opportunità terapeutica (52). Insuline intelligenti (*smart insulins*) sono ormai in fase di sviluppo secondo modalità molto differenti (53). In un caso l'insulina viene sequestrata in strutture polimeriche o matrici in grado di modificare la propria permeabilità sulla base delle concentrazioni di glucosio. Così sono state sviluppate microvescicole complessate con glucosio-ossidasi: in presenza di iperglicemia, il processo di riduzione enzimatica del glucosio comporterà una riduzione della tensione locale di O_2 che attiverà la dissociazione delle vescicole e il rilascio d'insulina. Il ritorno dei livelli di glicemia verso la normalità comporterà una minore attività enzimatica e, quindi, un aumento dei livelli di O_2 con conseguente ri-associazione delle vescicole e blocco dell'attività insulinica (54). Un secondo approccio si basa sulla modifica della molecola dell'insulina nativa (Fig. 3), così da conferire alla stessa un'attività glucosio-dipendente (*molecular glucose responsive insulin systems*). Proteine di fusione, modifiche conformazionali glucosio-mediate, derivati insulinici modificati con acido fenilboronico sono alcuni dei metodi messi in atto a questo scopo (52). In quest'ottica è possibile creare analoghi chimerici dell'insulina complessati con molecole saccaridiche. L'insulina di questi complessi interagirà con il recettore insulinico, mentre la componente saccaridica interagirà con sistemi di clearance del composto in competizione con il glucosio. Pertanto, in presenza di iperglicemia, il disaccaride non verrà clivato lasciando libera la componente insulinica di legare il proprio recettore ed esercitare la propria azione biologica. Di contro, in presenza di livelli di glucosio più bassi il composto verrà eliminato per legame del saccaride riducendo la quota di insulina in grado di agire tramite il recettore (55).

CONCLUSIONI

La scoperta dell'insulina è stata una vera e propria pietra miliare nella storia della diabetologia e di tutta la medicina. La sua evoluzione è stata segnata dal raggiungimento di obiettivi scientifici che hanno permesso di migliorare e salvare la vita di milioni di persone. Tuttavia, sarebbe riduttivo considerare la scoperta dell'insulina la sola chiave di volta della terapia del diabete. Non possiamo infatti ignorare l'incredibile spinta che questo evento ha dato al processo di comprensione dei più fini meccanismi fisiologici e fisiopatologici del metabolismo energetico (56). La scoperta dell'insulina ha fornito le basi stesse dell'attuale classificazione del diabete. In definitiva, la scoperta dell'insulina è stato un momento rivoluzionario che ha condizionato il mondo endocrinologico nei successivi 100 anni, per cui è auspicabile guardare con ottimismo ad un nuovo ciclo, ciclo che potrebbe essere caratterizzato dalla cura, prevenzione, e risoluzione del problema diabete. Cellule staminali, ingegneria tissutale e terapia genica sono tutte vie terapeutiche più promettenti in questo senso (57-58). Nonostante sia ancora in una fase sperimentale, il recupero della massa beta-cellulare e la riprogrammazione cellulare è già realtà (59). Analogamente, si guarda con maggiore fiducia ad una efficace prevenzione del diabete anche di tipo 1. Diversi filoni di ricerca hanno tentato di spingersi oltre, cercando dei modi per prevenirne l'insorgenza. Strategie basate sulla modulazione immunitaria sono attualmente in corso di sviluppo

Figura 3 ♦ Rappresentazione schematica dei principali meccanismi d'azione delle insuline intelligenti molecolari. Da (53)



- A. Insulina umana responsiva al glucosio; mono e disaccaridi sono legati all'N-terminale di una o più catene polipeptidiche dell'insulina. Questi analoghi sono coniugati alla concanavalina A (stelle rosse) prima della somministrazione. La concanavalina A sequestra l'insulina in condizioni di ipoglicemia e la libera in iperglicemia, grazie al legame competitivo con il glucosio (esagoni azzurri).
- B. Insulina glargine responsiva al glucosio. L'insulina glargine viene somministrata insieme alla glucosio ossidasi (GoD, poligono rosso) che riduce il pH locale ossidando il glucosio ad acido gluconico, aumentando quindi la biodisponibilità di glargine.
- C. Analogo LysB29 coniugato con acido fenilboronico. Questo analogo si lega a *carrier* polimerici contenenti diolo (rettangoli arancio con cerchi rossi) in maniera glucosio-dipendente.
- D. Analoghi insulinici coniugati a molecole contenenti acido fenilboronico e gruppi polioli (linee nere con cerchi rossi). Queste molecole riescono ad associarsi in complessi multi-esamero che si dissociano in maniera glucosio-dipendente.
- E. *Smart insulin* legata ad acido fenilboronico per mezzo di un acido grasso (linea nera con esagono verde) che ne permette il legame all'albumina (ovale blu) in condizioni di euglicemia e ne facilita la dissociazione in condizioni di iperglicemia.

con l'idea di poter indurre tolleranza nei soggetti predisposti a questa patologia mediante una sorta di “vaccinazione”. In questo senso, c'è da chiedersi se l'esperienza maturata nel corso della pandemia da Covid-19 non possa contribuire al raggiungimento di questo obiettivo. L'intelligenza artificiale troverà sempre maggiore impiego nell'ambito medico, permettendo, tra l'altro, l'integrazione di grandi quantità di dati biologici (omiche), personali, ambientali tali da fornire la base per una nuova tassonomia della malattia diabetica e avviare l'avvento della medicina di precisione del diabete (60). Un secolo quindi glorioso quello segnato dalla scoperta dell'insulina e con obiettivi ancor più ambiziosi nel sogno di curare in modo definitivo il diabete. Peraltro, a fronte di queste celebrazioni e aspettative generate con la scoperta dell'insulina, non possiamo ignorare ancora le ampie sacche di insufficiente cura del diabete nel mondo. Il brevetto dell'insulina fu venduto da Banting e colleghi per la cifra simbolica di 1 dollaro, perché era loro la convinzione che questa scoperta appartenesse al mondo e soprattutto che dovesse servire a sollevare le sofferenze di tutte le persone con diabete. Invece, a distanza di un secolo questo obiettivo non si è ancora realizzato. In alcune – ancora troppe – aree del mondo, i soggetti con diabete devono lottare quotidianamente per avere accesso alle loro dosi di insulina. Questo accade più frequentemente in paesi in via di sviluppo, ma non è raro trovare situazioni simili anche in alcuni Paesi occidentali (61). Dovrebbe invece rappresentare un nostro impegno affinché ciò non avvenisse. Questo impegno, che

almeno ogni diabetologo dovrebbe sentire proprio, non sarebbe che il modo migliore modo di celebrare veramente i ricercatori che hanno contribuito al miracolo della scoperta dell'insulina.

BIGLIOGRAFIA

1. Colwell AR. Fifty years of diabetes in perspective. *Diabetes* 17: 599-610, 1968. doi: 10.2337/diab.17.10.599.
2. Mazur A. Why were "starvation diets" promoted for diabetes in the pre-insulin period? *Nutr J* 10: 23, 2011. doi: 10.1186/1475-2891-10-23.
3. Jorgens V, Porta M. *Unveiling Diabetes - Historical Milestones in Diabetology*. Karger, Basel, 2020.
4. Laios K, Karamanou M, Saridaki Z, Androutsos G. Aretaeus of Cappadocia and the first description of diabetes. *Hormones (Athens)* 11: 109-13, 2012. doi: 10.1007/BF03401545.
5. Bouchardat A. *De la glycosurie ou diabète sucré, son traitement hygiénique*. Libr. G. Baillière, Paris, 1875.
6. Langerhans P. *Beitrag zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse*. Wilhelms-Universität Zu Berlin, 1869.
7. McGarry JD. What if Minkowski had been ageusic? An alternative angle on diabetes. *Science* 258: 766-70, 1992. doi: 10.1126/SCIENCE.1439783.
8. Zulzer G. Experimentelle Untersuchungen über den Diabetes. *Berl Klin Wochenschr* 55: 474-75, 1907.
9. Paulescu N. Recherche sur le rôle du pancréas dans l'assimilation nutritive. *Arch Int Physiol* 17: 85-110, 1921.
10. Rosenfeld L. Insulin: Discovery and Controversy. *Clin Chem* 48: 2270-88, 2002. doi: 10.1093/CLINCHEM/48.12.2270.
11. Banting F, Best C, Collip J, Fletcher A, Macleod J, Noble E. The effect produced on diabetes by extracts of pancreas. *Trans Assoc Am Physicians XXXVII*: 337-47, 1922.
12. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1923. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1923/summary/> (ultimo accesso: 12/08/2021).
13. Malone JK, Anderson JHJ, Wolpert HA, Ilag LL, Frank BH, De Felippis MR et al. Eli Lilly and Company Insulins - A Century of Innovation. *Pediatr Endocrinol Rev* 17: 138-60, 2020. doi: 10.17458/PER.VOL17.2020.JJH.ELILILLYCOMPANYINSULIN.
14. Bliss M. The history of insulin. *Diabetes Care* 16(Suppl 3): 4-7, 1993. doi: 10.2337/DIACARE.16.3.4.
15. Watson JD, Tooze J, Kurtz DT. *Recombinant DNA-A Short Course*. Scientific American Books, W. H. Freeman Co., New York, 1983.
16. Diabetes Control and Complications Trial Research Group, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329: 977-86, 1993. doi: 10.1056/NEJM199309303291401.
17. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352: 837-53, 1998. doi: 10.1016/S0140-6736(98)07019-6.
18. Home PD. Plasma insulin profiles after subcutaneous injection: how close can we get to physiology in people with diabetes? *Diabetes Obes Metab* 17: 1011-20, 2015. doi: 10.1111/DOM.12501.
19. Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&ApplNo=020563> (ultimo accesso: 15/08/2021).
20. DiMarchi RD, Chance RE, Long HB, Shields JE, Slieker LJ. Preparation of an Insulin with Improved Pharmacokinetics Relative to Human Insulin through Consideration of Structural Homology with Insulin-Like Growth Factor I. *Horm Res Paediatr* 41: 93-6, 1994. doi: 10.1159/000183967.
21. Davey P, Grainger D, MacMillan J, Rajan N, Aristides M, Gliksman M. Clinical outcomes with insulin lispro compared with human regular insulin: a meta-analysis. *Clin Ther* 19: 656-74, 1997. doi: 10.1016/S0149-2918(97)80091-4.
22. Hermansen K, Bohl M, Schioldan AG. Insulin Aspart in the Management of Diabetes Mellitus: 15 Years of Clinical Experience. *Drugs* 76: 41-74, 2016. doi: 10.1007/s40265-015-0500-0.
23. Garnock-Jones KP, Plosker GL. Insulin glulisine: a review of its use in the management of diabetes mellitus. *Drugs* 69: 1035-57, 2009. doi: 10.2165/00003495-200969080-00006.

24. Owens DR, Bolli GB. The continuing quest for better subcutaneously administered prandial insulins: a review of recent developments and potential clinical implications. *Diabetes Obes Metab* 22: 743-54, 2020. doi: 10.1111/DOM.13963.
25. U.S. Food and Drug Administration. (2020). "Lyumjev". https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2021/761109Orig1s000TOC.cfm (ultimo accesso: 12/08/2021).
26. Upadhyay J, Polyzos SA, Perakakis N, Thakkar B, Paschou SA, Katsiki N, et al. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism* 78: 13-42, 2018. doi: 10.1016/J.METABOL.2017.08.010.
27. U.S. Food and Drug Administration. (2000). "Lantus". <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&ApplNo=021081> (ultimo accesso: 08/11/2021).
28. Barnett AH. Insulin glargine in the treatment of type 1 and type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag* 2: 59-67, 2006. doi: 10.2147/vhrm.2006.2.1.59.
29. Dunn CJ, Plosker GL, Keating GM, McKeage K, Scott LJ. Insulin glargine: an updated review of its use in the management of diabetes mellitus. *Drugs* 63: 1743-78, 2003. doi: 10.2165/00003495-200363160-00007.
30. Porcellati F, Bolli GB, Fanelli CG. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of basal insulins. *Diabetes Technol Ther* 13(Suppl 1): S15-S24, 2011. doi: 10.1089/dia.2011.0038.
31. Goldman-Levine JD, Patel DK, Schnee DM. Insulin degludec: a novel basal insulin analogue. *Ann Pharmacother* 47: 269-77, 2013. doi: 10.1345/aph.1R351.
32. Owens DR. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin glargine 300 U/mL in the treatment of diabetes and their clinical relevance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 12: 977-87, 2016. doi: 10.1080/17425255.2016.1202916.
33. Mathieu C, Hollander P, Miranda-Palma B, Cooper J, Franek E, Russell-Jones D et al. Efficacy and safety of insulin degludec in a flexible dosing regimen vs insulin glargine in patients with type 1 diabetes (BEGIN: Flex T1): a 26-week randomized, treat-to-target trial with a 26-week extension. *J Clin Endocrinol Metab* 98: 1154-62, 2013. doi: 10.1210/JC.2012-3249.
34. Rosenstock J, Del Prato S. Basal weekly insulins: the way of the future! [published online ahead of print, 2021 Oct 30]. *Metabolism* 154924, 2021. doi: 10.1016/j.metabol.2021.154924.
35. Rath T, Baker K, Dumont JA, Peters RT, Jiang H, Qiao SW et al. Fc-fusion proteins and FcRn: structural insights for longer-lasting and more effective therapeutics. *Crit Rev Biotechnol* 35: 235-54, 2015. doi: 10.3109/07388551.2013.834293.
36. Kadza CM, Chien J, Zhang Q, Chigutsa E, Landschulz W, Wullenweber P et al. 192-OR: Glycemic Control with Once-Weekly Basal Insulin Fc (BIF) in Persons with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Using Continuous Glucose Monitoring (CGM) in a Phase 2 Study. *Diabetes* 70: 192-OR, 2021. doi: 10.2337/DB21-192-OR.
37. Kjeldsen TB, Hubálek F, Hjørringgaard CU, Tagmose TM, Nishimura E, Stidsen CE, et al. Molecular Engineering of Insulin Icodec, the First Acylated Insulin Analog for Once-Weekly Administration in Humans. *J Med Chem* 64: 8942-50, 2021. doi: 10.1021/ACS.JMEDCHEM.1C00257.
38. Rosenstock J, Bajaj HS, Janež A, Silver R, Begtrup K, Hansen MV et al. Once-Weekly Insulin for Type 2 Diabetes without Previous Insulin Treatment. *N Engl J Med* 383: 2107-16, 2020. doi: 10.1056/NEJMOA2022474.
39. Rex J, Jensen KH, Lawton SA. A review of 20 years' experience with the NovoPen family of insulin injection devices. *Clin Drug Investig* 26: 367-401, 2006. doi: 10.2165/00044011-200626070-00001.
40. Kompala T, Neinstein AB. Smart Insulin Pens: Advancing Digital Transformation and a Connected Diabetes Care Ecosystem [published online ahead of print, 2021 Jan 12]. *J Diabetes Sci Technol*, 2021. doi: 10.1177/1932296820984490.
41. Gänsslen M. Über inhalation von insulin. *Klin Wochenschr* 4: 71, 1925.
42. Quattrin T, Bélanger A, Bohannon NJ, Schwartz SL; 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* 27: 2622-7, 2004. doi: 10.2337/DIACARE.27.11.2622.
43. Kim ES, Plosker GL. AFREZZA® (insulin human) Inhalation Powder: A Review in Diabetes Mellitus. *Drugs* 75: 1679-86, 2015. doi: 10.1007/s40265-015-0472-0.
44. Kaur G, Arora M, Ravi Kumar MNV. Oral Drug Delivery Technologies-A Decade of Developments. *J Pharmacol Exp Ther* 370: 529-43, 2019. doi: 10.1124/JPET.118.255828.

45. Arbit E, Kidron M. Oral insulin: the rationale for this approach and current developments. *J Diabetes Sci Technol* 3: 562-7, 2009. doi: 10.1177/193229680900300322.
46. New RRC, Bogus M, Travers GN, Namjoshi GS. 99-LB: A Phase 2b Study of Oral Insulin (Capsulin) Administered to Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes* 70: 99-LB, 2021. doi: 10.2337/DB21-99-LB.
47. Aguirre TA, Teijeiro-Osorio D, Rosa M, Coulter IS, Alonso MJ, Brayden DJ. Current status of selected oral peptide technologies in advanced preclinical development and in clinical trials. *Adv Drug Deliv Rev* 106: 223-41, 2016. doi: 10.1016/J.ADDR.2016.02.004.
48. 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* 7: 179-88, 2019. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30372-3.
49. Abramson A, Caffarel-Salvador E, Khang M, Dellal D, Silverstein D, Gao Y et al. An ingestible self-orienting system for oral delivery of macromolecules. *Science* 363: 611-15, 2019. doi: 10.1126/SCIENCE.AAU2277.
50. Boughton CK, Hovorka R. New closed-loop insulin systems. *Diabetologia* 64: 1007-15, 2021. doi: 10.1007/S00125-021-05391-W.
51. Iacovacci V, Tamadon I, Kauffmann E, Pane S, Simoni V, Marziale L, et al. A fully implantable device for intraperitoneal drug delivery refilled by ingestible capsules. *Sci Robot* 6: eabh3328, 2021. doi: 10.1126/scirobotics.abh3328.
52. Jarosinski MA, Dhayalan B, Rege N, Chatterjee D, Weiss MA. “Smart” insulin-delivery technologies and intrinsic glucose-responsive insulin analogues. *Diabetologia* 64: 1016-29, 2021. doi: 10.1007/S00125-021-05422-6.
53. Rege NK, Phillips NFB, Weiss MA. Development of glucose-responsive “smart” insulin systems. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 24: 267-78, 2017. doi: 10.1097/MED.0000000000000345.
54. Yu J, Zhang Y, Ye Y, DiSanto R, Sun W, Ranson D et al. Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 8260-5, 2015. doi: 10.1073/PNAS.1505405112.
55. Kaarsholm NC, Lin S, Yan L, Kelly T, van Heek M, Mu J et al. Engineering Glucose Responsiveness Into Insulin. *Diabetes* 67: 299-308, 2018. doi: 10.2337/DB17-0577.
56. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet* 383: 1068-83, 2014. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62154-6.
57. Kolic J, Johnson JD. Promises and pitfalls of beta cell-replacement therapies. *Nat Metab* 3: 1036-37, 2021. doi: 10.1038/S42255-021-00433-4.
58. Pärth G, Perakakis N, Mantzoros CS, Seufert J. Stem cells in the treatment of diabetes mellitus - Focus on mesenchymal stem cells. *Metabolism* 90: 1-15, 2019. doi: 10.1016/J.METABOL.2018.10.005.
59. Keymeulen B, Jacobs-Tulleneers-Thevissen D, Kroon EJ, Jaiman MS, Daniels M, Wang R, et al. 196-LB: Stem Cell-Derived Islet Replacement Therapy (VC-02) Demonstrates Production of C-Peptide in Patients with Type 1 Diabetes (T1D) and Hypoglycemia Unawareness. *Diabetes* 70: 196-LB, 2021. doi: 10.2337/DB21-196-LB.
60. Chung WK, Erion K, Florez JC, Hattersley AT, Hivert MF, Lee CG et al. Precision medicine in diabetes: a Consensus Report from the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia* 63: 1671-93, 2020. doi: 10.1007/S00125-020-05181-W.
61. Moran-Thomas A. One Hundred Years of Insulin for Some. *N Engl J Med* 385: 293-5, 2021. doi: 10.1056/NEJMP2105697.