

HISTORIA DE LA DIABETES

*Germán Sanchez Rivero

La diabetes era ya conocida antes de la era cristiana. En el manuscrito descubierto por Ebers en Egipto, en el siglo XV AC, se describen síntomas que parecen corresponder a la Diabetes.

Al final del siglo I y principios del siglo II Ateneo de Atalia funda en Roma la Escuela de los neumáticos. El concepto griego de pneuma (aire, aliento vital) se remonta a la filosofía de entonces. El neuma se obtiene a través de la respiración y las enfermedades se deben a algún obstáculo que se presente en el proceso.

ARETEO DE CAPADOCIA, un médico griego que posiblemente estudió en Alejandría y residente en Roma describe las enfermedades clásicas como la tuberculosis, la difteria y la epilepsia; para él la Diabetes es una enfermedad fría y húmeda en la que la carne y los músculos se funden para convertirse en orina. Fue él quien le dió el nombre de Diabetes que en griego significa Sifón, refiriéndose el síntoma mas llamativo por la exagerada emisión de orina. El quería decir que el agua entraba y salía sin quedarse en el individuo.

En el siglo II Galeno también se refirió a la diabetes.

En los siglos posteriores no se encuentran en los escritos médicos referencias a esta enfermedad hasta que, en el siglo XI, Avicena habla con clara precisión de esta afección en su famoso Canon de la Medicina. Tras un largo intervalo fue Tomás Willis quien, en 1679, hizo una descripción magistral de la diabetes, quedando desde entonces reconocida por su sintomatología como entidad clínica. Fue él quien, refiriéndose al sabor dulce de la orina, le dio el nombre de diabetes mellitus (sabor a miel).

RENACIMIENTO Y SIGLO XVI

A partir del siglo XVI comienzala sucederse descubrimientos médicos, principalmente en Europa. Paracelso (1491-1541) escribió que la orina de los diabéticos contenía una sustancia anormal que quedaba como residuo de color blanco al evaporar la orina, creyendo que se trataba de sal y atribuyendo la diabetes a una deposición de ésta sobre los riñones causando la poliuria y la sed de estos enfermos.



Fig. 1: Teofrasto Bombasto de Hoeim (Paracelso).

Sin embargo, la primera referencia en la literatura occidental de una "orina dulce" en la diabetes se debe a Tomas Willis (1621-1675) autor de "Cerebri anatome", el mejor tratado de anatomía del cerebro realizado hasta la fecha. De esta manera, aparece en la medicina occidental un hecho ya conocido por la medicina oriental más de 1000 años antes. Willis escribió que "antiguamente esta enfermedad era bastante rara pero en nuestros días, la buena vida y la afición por el vino hacen que encontremos casos a menudo...".

La figura más sobresaliente de la medicina clínica del siglo XVII fue Tomas Sydenham (1624-1689), doctorado en Cambridge quien hizo que la Medicina volviera a regirse por los principios hipocráticos. Sydenham especuló que la diabetes era una enfermedad sistémica de la sangre que aparecía por una digestión defectuosa que hacía que parte del alimento tuviera que ser excretado en la orina.

SIGLO XVI

Unos 100 años más tarde, Mathew Dobson (1725-1784) médico inglés de Liverpool hizo por primera vez estudios en grupos de pacientes. Después de tratar un pequeño grupo de pacientes Dobson informó que estos pacientes tenían azúcar en la sangre y en la orina y describió los síntomas de la diabetes. Dobson pensaba que el azúcar se formaba en la sangre por algún defecto de la digestión limitándose los riñones a eliminar el exceso de azúcar.

En 1775 Dobson identificó la presencia de glucosa

*Médico Miembro de la "Academia de la historia de la Medicina" - Cochabamaba

en la orina. La primera observación en un diabético fue realizada por Cawley y publicada en el "London Medical Journal" en 1788. Casi en la misma época el inglés Rollo consiguió mejorías notables con un régimen rico en proteínas y grasas y limitado en hidratos de carbono. Los primeros trabajos experimentales relacionados con el metabolismo de los glúcidos fueron realizados por Claude Bernard quien descubrió en 1848, el glucógeno hepático y provocó la aparición de glucosa en la orina excitando los centros bulbares mediante pinchaduras.

Algunos años más tarde otro médico inglés, John Rollo publicó sus observaciones sobre dos casos diabéticos describiendo muchos de los síntomas y olor a acetona (que confundió con olor a manzana) y proponiendo una dieta pobre en hidratos de carbono y rica en carne, con complementos a base de antimonio, opio y digital. Con esta dieta anoréctica Rollo observó que se reducía el azúcar en la sangre y consiguió una mejora de la sintomatología en algunos casos. Fue el primero en acuñar el término de diabetes mellitus para diferenciar la enfermedad de otras formas de poliuria. También es de esta época la observación de Thomas Cawley en 1788 de que la diabetes mellitus tenía su origen en el páncreas, "por ejemplo por la formación de un cálculo".

SIGLO XIX

En la segunda mitad del siglo XIX el gran clínico francés Bouchardat señaló la importancia de la obesidad y de la vida sedentaria en el origen de la diabetes y marco las normas para el tratamiento dietético, basándolo en la restricción de los glúcidos y en el bajo valor calórico de la dieta. Los trabajos clínicos anatomopatológicos adquirieron gran importancia a fines del siglo pasado, en manos de Frerichs, Cantani, Naunyn, Lanceraux, etc. Y culminaron con las experiencias de pancreatometomía en el perro, realizadas por Mering y Minkowski en 1889.

La búsqueda de la presunta hormona producida, por las células descritas en el páncreas, en 1869, por Langerhans, se inició de inmediato.



Figura 2: Pablo Langerhans (1847-1888).

Hedon, Gley, Laguesse y Sabolev estuvieron muy cerca del ansiado triunfo, pero éste correspondió, en 1921, a los jóvenes canadienses Banting y Best, quienes consiguieron aislar la insulina y demostrar su efecto hipoglucemiante. Este descubrimiento significó una de las más grandes conquistas médicas del siglo XX, porque transformó el porvenir y la vida de los diabéticos y abrió amplios horizontes en el campo experimental y biológico para el estudio de la diabetes y del metabolismo de los glúcidos.

La era de la racionalidad que se inició en Francia con la revolución francesa y continuó a lo largo del siglo XIX, con el comienzo de una ciencia experimental, permitió que se consiguieran más avances en medicina de los que se habían conseguido en todos los siglos anteriores.

Una de las mayores figuras fue el fisiólogo francés Claude Bernard (1813-1878) que realizó importantes descubrimientos incluyendo la observación de que el azúcar que aparece en la orina de los diabéticos había estado almacenado en el hígado en forma de glucógeno. También demostró que el sistema nervioso central estaba implicado en el control de la glucosa al inducir una glucemia transitoria en el conejo consciente estimulando la médula. También realizó numerosos experimentos con el páncreas desarrollando el modelo de ligadura del conducto pancreático y aunque él no llegó a atribuir a este órgano un papel endocrino, permitió a otros demostrar que con esta técnica se inducía la degeneración del páncreas exócrino manteniendo intacta la función endocrina.

Las funciones del páncreas como glándula capaz de reducir los niveles de glucosa en sangre comenzaron a aclararse en la segunda mitad del siglo XIX. En 1889, Oskar Minkowski y Josef von Mering, tratando de averiguar si el páncreas era necesario para la vida, pancreatometomizaron un perro. Después de la operación ambos investigadores observaron que el perro mostraba todos los síntomas de una severa diabetes, con poliuria, sed insaciable e hiperfagia. Minkowski observó, asimismo, hiperglucemia y glucosuria. De esta manera quedó demostrado que el páncreas era necesario para regular los niveles de glucosa y estimuló a muchos investigadores a tratar de aislar del páncreas un principio activo como un posible tratamiento de la enfermedad.

Por otra parte, ya en 1869 un joven médico berlinés, Paul Langerhans mientras trabajaba en su tesis doctoral, había observado unos racimos de células pancreáticas bien diferenciadas de las demás y que podían ser separadas de los tejidos de los alrededores. Langerhans, que entonces tenía 22 años, se limitó a describir estas células

sin entrar a tratar de averiguar cual era su función.

Hubo que esperar hasta 1893, fecha en la que un médico belga, Edouard Laguesse, sugirió que estos racimos de células, que el había llamado, "islotos de Langerhans" constituían la parte exocrina del páncreas. Sus ideas fueron continuadas por Jean de Meyer quien denominó "insulina" a la sustancia procedente de los islotos (en latín islote se denomina "insulia") que debía poseer una actividad hipoglucemiante pero que todavía era hipotética.

En los últimos años del siglo XIX y los primeros del XX, se realizaron grandes esfuerzos para aislar la insulina. Uno de los primeros investigadores en obtener resultados fue el alemán Georg Zuelger quien obtuvo una serie de extractos pancreáticos que eran capaces de reducir los síntomas de diabetes en un perro previamente pancreatectomizado. Zuelger publicó sus resultados en 1907 e incluso patentó su extracto ("Acomatol"). Sin embargo, los graves efectos tóxicos que producía hicieron que renunciase a seguir sus experimentaciones.

El médico rumano Nicolas Paulesco también preparó un extracto a partir de pancreas congelados de perro y buey y demostró que los mismos eran capaces de revertir la hiperglucemia. De hecho, uno de los extractos preparados por Paulesco era tan potente, que uno de los perros tratados murió debido a la hipoglucemia. Debido a la primera Guerra Mundial, las observaciones de Paulesco sobre los efectos de su "pancreatina" no fueron publicadas hasta 1921. lo mismo que en el caso de Zuelger, los efectos tóxicos de los extraídos excluían cualquier posibilidad de administración terapéutica.

En el año 1909 los doctores Pi Suñer y Ramón Turró publicaron los primeros trabajos experimentales de diabetes que no difieren uno del otro de las investigaciones que en el momento se hacían sobre la enfermedad; el trabajo se refiere a dos escritos: "La diabetes experimental" y "La dieta de los diabéticos" que aparecen en el año 1909 en las revistas de Ciencias Médicas de Cataluña. los autores ponen de manifiesto los mecanismos de regulación de la glicemia, que en determinadas condiciones, el simpático y las catecolaminas de la médula suprarrenal entran en juego. Según los autores, la elevación de la glicemia se debe a la actuación de las hormonas de la médula suprarrenal y a la ejercida por las catecolaminas de la terminal sináptica.

A pesar de que teóricamente estaba próximo a resolver el problema de la diabetes, la verdad es que hasta la década de los 20, los diabéticos tenían pocas posibilidades de sobrevivir. Las dietas

anorexicas promovidas por el diabetólogo bostiano Frederick M. Allen, solo conseguían prolongar pocos meses de vida. Los tratamientos existentes en poco diferían de los propuestos por Arateus, casi 200 años antes.

Otros descubrimientos relacionados con la diabetes también tuvieron lugar en la mitad del siglo XIX. William Prout (1785-1859), asoció el coma a la diabetes; el oftalmólogo americano H.D. Noyes, observó que los diabéticos padecían de una forma de retinitis y Kussmaul (1822-1902), descubrió la cetoacidosis.

Sanger utilizó tres herramientas para conseguir armar el rompecabezas: la utilización de un marcador especial que se une a los grupos NH₂ libres, la hidrólisis fraccionada y la cromatografía en capa fina. El marcador empleado por Sanger fue el DNP (dinitrofenol) que se une al NH₂ terminal y resiste la hidrólisis. De esta manera, fraccionando la molécula de insulina en diferentes péptidos, marcando estos con DNP y produciendo la hidrólisis fraccionada y total de estos péptidos para identificar los aminoácidos.

En primer lugar, Sanger consiguió fraccionar la molécula de insulina en sus dos cadenas. Para ello, aprovechó el hecho de que los puentes disulfuro entre las mismas se pueden romper selectivamente por oxidación con ácido per fórmico. Después Sanger separó ambas cadenas por electroforesis. Demostró que una cadena se iniciaba con glicocola, mientras que la segunda se iniciaba por fenilalanina.

Sanger se concentró inicialmente sobre la cadena de glicocola. Sometiendo la cadena a hidrólisis parcial, marcando los fragmentos peptídicos con DNP, separando los mismos y analizándolos en busca de secuencia iguales en los diferentes fragmentos, Sanger y sus ayudantes demostraron que la secuencia inicial de la cadena de glicocola era: Glicocola-isoleucina-valina-ácido glutámico-ácido glutámico

Procediendo de esta manera, Sanger llegó a conocer la secuencia completa de la cadena de glicocola. La cadena de fenilalanina, con 30 aminoácidos era, con gran diferencia, el polipéptido más completo cuyo análisis no se había intentado jamás. Sanger abordó el problema empleando la misma técnica que la utilizaba para la cadena de glicocola, pero además, empleó enzimas proteolíticas que cortan los polipéptidos de forma selectiva.

En un año de trabajo, Sanger consiguió identificar y situar los aminoácidos de la cadena de fenilalanina. Tampoco fue fácil averiguar como se situaban los puentes disulfuro entre las dos cadenas. Sin embargo, Sanger y sus colaboradores encontraron la forma de hidrolizar las cadenas manteniendo intactos estos puentes. El análisis de los

aminoácidos unidos a los puentes permitió, en último término llegar a la estructura de la insulina. Por esta magnífica proeza, Sanger recibió el premio Nobel de medicina en 1955. Se necesitaron 12 años más para descubrir que la insulina se excreta y se almacena como proinsulina, inactiva, que se escinde a insulina activa con sus cadenas y a un resto llamado péptido C y hasta la década de los 70 no se conoció con exactitud su estructura tridimensional.

Simultáneamente a los avances obtenidos en la dilucidación de la estructura 3 D de la insulina y de su biosíntesis en los mamíferos, los biólogos moleculares aislaban los genes responsables de la producción del proinsulina (Villa Komaroff, L. Y col. 1978) y pronto la industria farmacéutica vislumbró la posibilidad de obtener insulina humana por clonación de genes en bacterias.

La insulina humana ha sido el primer producto comercial de la clonación de genes y su éxito ha sido debido al pequeño tamaño de la molécula que hizo posible la síntesis de un gen.

La estrategia seguida para la producción de insulina humana recombinante fue la siguiente: En primer lugar, se sintetizaron químicamente las cadenas de ADN con las secuencias correspondientes a las cadenas de glicocola y fenilalanina, siendo necesarios 63 nucleótidos para la primera y 90 para la segunda más un triplete para señalar el fin de la traducción. Además, para facilitar la separación de los productos sintetizados, se añadió a cada gen el triplete correspondiente a la metionina.

Los genes sintéticos A y B se insertaron por separado en el gen bacteriano responsable de la β -galactosidasa y presente en un plásmido. Los plásmidos recombinantes se introdujeron en *E. coli* donde se multiplicaron, fabricando un ARNm que tradujo una proteína quimérica, en la que una parte de la secuencia de la β -galactosidasa estaba unida por una metionina a la cadena de glicocola o de fenilalanina de la insulina. Como ninguna de las cadenas de insulina contiene metionina, esto se aprovechó para separar las cadenas de la insulina del resto de proteína quimérica rompiéndola con bromuro de cianógeno que destruye la metionina. Después de purificadas, las cadenas se unieron mediante una reacción que forma puentes disulfuro.

DESCUBRIMIENTO DE LA INSULINA

La insulina fue descubierta en el verano 1921 por Sir Frederick Grant Banting como consecuencia de una serie de experimentos realizados en la cátedra del Prof. Jhon J.R. MacLeod, profesor de fisiología de la Universidad de Toronto.

Banting había mostrado ya mucho interés por la diabetes y había seguido de cerca los trabajos de

Sahfer y otros, quienes habían observado que la diabetes estaba ocasionada por la carencia de una proteína originada en las células de los islotes de Langerhans y que habían denominado insulina. Shafer suponía que la insulina controlaba el metabolismo del azúcar en la sangre y su eliminación por la orina, de tal forma que su carencia ocasionaba una excreción urinaria aumentada. Sin embargo, sus intentos por suplir esta deficiencia de insulina administrando a los pacientes diabéticos extractos de páncreas habían fracasado, probablemente debido a la presencia de enzimas proteolíticas en los extractos pancreáticos.

Dándole vueltas al problema, en 1921, Banting leyó una publicación de un tal Moses Barón en la que se demostraba que la ligadura del conducto pancreático ocasionaba la degeneración de las células productoras de la tripsina, mientras que los islotes de Langerhans permanecían intactas.

Banting consiguió convencer a MacLeod para que, durante las vacaciones de éste le asignara un ayudante y le permitiera utilizar sus laboratorios. Charles Best, estudiante de Química fue el encargado de aislar la presunta proteína.

En tan solo 9 semanas, luchando contra reloj, Banting y Best ligaron el conducto pancreático de varios perros y obtuvieron un extracto de páncreas libre de tripsina. Después, provocaron una diabetes experimental en otros perros, y, una vez desarrollada la enfermedad, comprobaron que la administración del extracto de páncreas de los primeros reducía o anulaba la glucosuria de los segundos. Habían descubierto la insulina.



Fig. 3: Banting y Best con Marjorie, perra pancreatectomizada y mantenida en vida con insulina.

Como consecuencia de este descubrimiento, MacLeod y Banting recibieron en 1923 el Premio Nobel de Medicina, Banting protestó porque MacLeod compartiera el premio en lugar de Best, y repartió con este último su parte del Nobel

LA ESTRUCTURA DE LA INSULINA

El siguiente hito en la historia de la insulina fue la dilucidación de su estructura, proeza realizada en 1954 por Frederick Sanger y sus colaboradores de la Universidad de Cambridge. Sanger estaba interesado por la estructura de las proteínas, eligiendo la insulina por ser una de las pocas que podía ser conseguida en estado razonablemente puro, por conocerse ya su composición química y peso molecular y porque la actividad de la misma debía estar ligada a algún componente estructural.

La insulina es una molécula muy pequeña: sólo contiene 254 átomos de carbono, 337 de hidrógeno, 65 de nitrógeno, 75 de oxígeno y 6 de azufre. Además, desde los trabajos de Fisher se sabía que de los 24 aminoácidos posibles, 17 están presentes en la insulina.



Figura 4: Federico Sanger, publicó la fórmula estructural de la insulina bovina.

El trabajo realizado por Sanger consistió en dilucidar no solo la estructura total de la molécula de insulina, sino también el orden en el que se alinean las distintas subunidades de aminoácidos. Esta secuencia es crucial: un solo cambio en la posición de un aminoácido dentro de la molécula puede hacer cambiar la funcionalidad de la proteína. Para conseguir esto, Sanger utilizó el método tradicional empleado por los químicos para estudiar las grandes moléculas romperlas en fragmentos y colocarlas nuevamente juntas como las piezas de un rompecabezas. La rotura de la molécula sirve para identificar los aminoácidos, pero no dice nada acerca de cómo están ordenados.

DESARROLLO DEL CERDO TRASGÉNICO CON PÁNCREAS BIOCOMPATIBLES

Los desarrollos de la ingeniería genética hacen posible la obtención de cerdos transgénicos en los que se ha insertado la información genética necesaria para crear un páncreas biocompatible. La técnica es la siguiente:

- Aislamiento de los genes que codifican los tejidos pancreáticos y sus productos de secreción.
- Corrección de errores genéticos
- Inserción de los genes corregidos en un óvulo de cerdo.
- Implantación del oocito en el útero de una cerda gestante
- Sacrificio del cerdo transgénico al año del nacimiento
- Trasplante de páncreas.

DESARROLLO DE CULTIVOS AUTO-LOGOS DE ÓRGANOS

Los factores de diferenciación y crecimiento que regulan la organogénesis son conocidos en su totalidad. Se desarrollan medios y técnicas de cultivo de órganos en laboratorios situados en órbitas para conseguir gravedad 0. La técnica seguida es la siguiente: después de corregir los errores genéticos del diabético, su DNA es insertado en un oocito humano. Mediante la adición de factores específicos de diferenciación y crecimiento, el oocito evoluciona a un páncreas que es posteriormente transplantado.

Alternativamente, el páncreas completo puede ser sustituido de islotes puros procedentes de cultivos de células pancreáticas manipuladas para corregir los errores. El trasplante se lleva a cabo según la técnica seguida por Shapiro y col en 2000 sin la necesidad de tratar los pacientes transplantados con inmunosupresores.

BIBLIOGRAFIA

1. SCHADEWALDT H, Historia de la diabetes, Farbwerke hoechst AG, Alemania.
2. Enciclopedia de Medicina
3. Enciclopedia de las Ciencias Médicas