

A cien años del descubrimiento de la insulina

Houssay, sus discípulos, y la producción en Argentina

La diabetes como patología se conocía desde los antiguos egipcios, pero no fue hasta 1889 cuando Joseph von Mering y Oskar Minkowski describieron que la extirpación del páncreas en animales llevaba a una patología con los mismos síntomas de la diabetes. Los estudios subsiguientes permitieron relacionar esta patología con una proteína a la que se denominó insulina, pero los intentos de validar su función mediante la administración de extractos de páncreas habían sido infructuosos, debido a que esta proteína era degradada por las enzimas proteolíticas del páncreas.

Entre 1921 y 1922 el médico canadiense Frederick Grant Banting y el entonces estudiante de Medicina Charles Herbert Best aíslan y purifican la primera insuli-

na de origen animal. Un paso gigante para el tratamiento de la diabetes. La originalidad de su aproximación fue la ligadura del conducto pancreático en animales para que desaparecieran los acinos productores de las enzimas digestivas, y lograr así preservar las células de secreción interna del páncreas y la insulina intacta. En un par de meses hidrataron y filtraron el material macerado obteniendo un extracto que inyectaron a un perro al que se le había extirpado el páncreas (pancreatectomizado, y por ende diabético), obteniendo un descenso significativo de la glucemia. Este fue el momento eureka que definiría los pasos a seguir. Los relatos de Best muestran un investigador apasionado: 'La lucha en el subsuelo del Medical Building durante el invierno y verano de 1922 fue épica. Recuerdo el túnel de viento para evaporar la acetona de

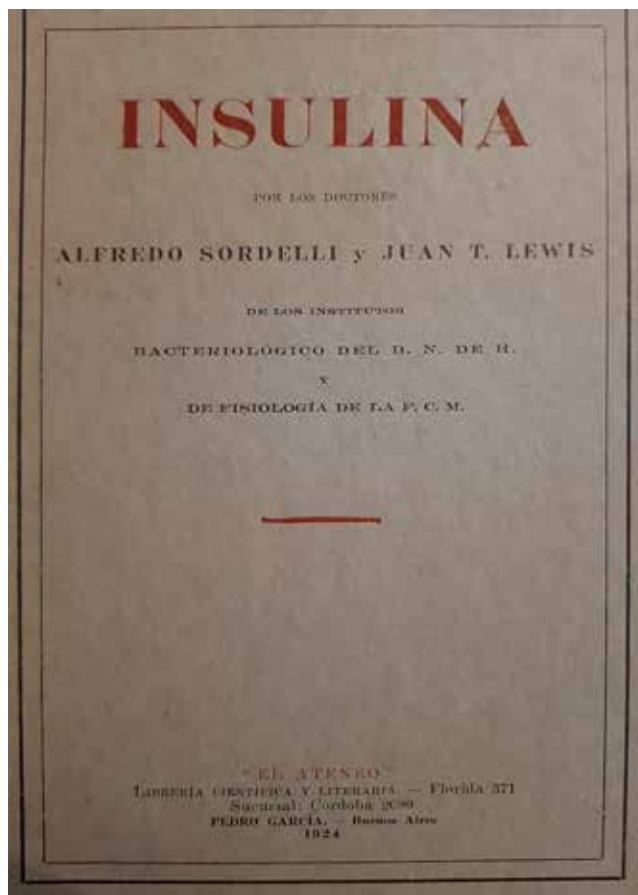
¿DE QUÉ SE TRATA?

El desarrollo de la insulina en nuestro país, desde la óptica de sus protagonistas y los desafíos que se encontraron en el camino.

los extractos de páncreas, con la ayuda de cables eléctricos calientes y sin protección, el matraz gigante que explotó, el condensador hambriento de hielo que surtíamos a mano, las inundaciones, las ratas salvajes, todo eso dejó vívidas impresiones en la mente del primer becario que trabajaba en el proyecto'. El primer trabajo científico se publica en 1922 en el *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. Mas tarde se sumaría al equipo James Bertran Collip, un destacado bioquímico que cambió el procedimiento para obtener el extracto, utilizando alcohol en vez de acetona. Con el extracto purificado se inyectaron los primeros pacientes con resultados espectaculares. Este logro marcó un hito clínico en una época cuando el único remedio para enfermos con diabetes era hacer dieta, y su perspectiva de sobrevivida era muy baja. Los relatos del efecto de la administración de insulina revelan el impacto y la emoción de ser testigos de los beneficios casi inmediatos que se obtenían con normalización de la glucosa en sangre, inhibición de la glucosa y disminución de los cuerpos cetónicos en orina, y mejora clínica con aumento del vigor y sentimiento de bienestar.

En la Argentina (sin internet, ni redes, ni aviones), al año siguiente, y habiendo leído la publicación de Banting y Best, Bernardo Houssay se entusiasma con la idea y se convierte en motor de un proyecto para fabricar la insulina en nuestro país. Le pide a Alfredo Sordelli (por entonces de treinta y tres años, auxiliar docente de Química Biológica en el Instituto de Fisiología dirigido por Houssay y con quien lo unía una estrecha relación personal y científica) que prepare insulina en el Instituto Bacteriológico Malbrán, 'para ser usada en experimentos, en enfermos, y para ser vendida'. En un pasillo Sordelli entabla conversación con el estudiante Venancio Deulofeu (de veintinueve años) para convocarlo al proyecto. 'Pienso que debo haberle preguntado algo sobre la insulina, pues algunos días después me preguntó a su vez si quería acompañarlo en un trabajo que estaba realizando con el fin de preparar insulina de una pureza que permitiera su empleo en experiencias con animales. La única condición era trabajar gratis et amore'. Esa conversación de pasillo cierra el destino de Deulofeu, quien se une al proyecto decididamente.

Y así comenzaron el trabajo Sordelli y Deulofeu solo con la separata de la publicación para guiarlos. El esfuerzo demandó mucha imaginación y habilidad técnica para soslayar inconvenientes por la falta de equipos o de la información incompleta. Pero el resultado fue que a solo un año de publicada su extracción por Banting, Best, Collip y otros investigadores, la Argentina obtuvo insulina para sus pacientes, compitiendo con Estados Unidos y Europa, gracias a la acción movilizadora de Houssay, y la vocación y el entusiasmo de Sordelli y Deulofeu. Una necesidad social, un motor, una idea genial, y pasión por el trabajo.



Tapa del libro *Insulina* publicado en 1924 por Sordelli y Lewis, con la descripción de la extracción de insulina.

Deloufeu acompañó a Sordelli cuando llevaron las primeras muestras de insulina a Houssay, quien comprobó la acción terapéutica 'útil, eficaz y notable' del producto obtenido por ambos colaboradores. Casi inmediatamente fue usada en experimentos en animales por Houssay, y en la clínica por Malamud.

Por otro lado, Houssay envió al recientemente graduado médico Juan Lewis a Canadá para conseguir insulina. La primera administración de insulina en nuestro país fue realizada el 1 de agosto de 1923 con gran éxito, ya que la paciente se recuperó de su cuadro de precoma diabético. La inyección la efectuó el mismo Lewis y quedaron a cargo de la enferma, pasando la noche junto a ella los practicantes Félix Puchulu y Pedro B Landabure, ambos discípulos de Pedro Escudero, quien luego sería conocido como el padre de la nutrición en nuestro país. Escudero, profesor titular de la cátedra de Clínica Médica (1921) fue clave en el crecimiento de la nutrición clínica en la Argentina.

Así, hace noventa y nueve años, los pacientes con diabetes de la República Argentina disponían de la insulina que les aseguraba la supervivencia.

En el Instituto Bacteriológico Malbrán, Sordelli (aho-

ra director) promovió a Deulofeu a jefe de la sección de Organoterapia, y ambos estuvieron asociados desde los inicios en la producción industrial de insulina. Esta insulina tenía el inconveniente de actuar por un corto lapso, con un pico de acción a los 30 minutos que la hacía ideal para el tratamiento de los comas diabéticos; pero para el tratamiento crónico en pacientes diabéticos graves su corta duración obligaba a utilizar tres o cuatro inyecciones diarias. En esa misma sección, Deulofeu desarrolló entonces las insulinas de acción lenta, las que aumentaban su tiempo de acción hasta casi veinticuatro horas. En 1936, el investigador danés Hans Hagedorn había sintetizado estas insulinas asociándolas a la proteína extraída del salmón: la protamina. Ante la imposibilidad de obtener esa proteína en el país (como vemos, las dificultades de importación de reactivos no es nueva), Deulofeu extrajo otra proteína a partir del hígado, la histona, con la que obtuvo resultados comparablemente satisfactorios para producir insulinas de acción lenta: la insulina-histona. Con ello en 1936 la Argentina y Dinamarca estaban a la cabeza en la innovación de insulinas de larga duración.

Pasaron muchos años desde aquel protagonismo innegable de la Argentina en la ciencia y la producción de insulina. En 1944 Houssay crea la Fundación Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), donde continúa los estudios de la insulina, y recibe el premio Nobel de medicina en 1947.

Para 1960 ya se había dilucidado la estructura molecular y tridimensional de la insulina humana, y a partir de los desarrollos en el área de biología molecular y ADN recombinante en 1978 se comienza la producción de la proteína humana en *Escherichia coli*, generando y comercializando la insulina recombinante humana en 1980 por Eli Lilly y Genentech. Hasta este punto, la insulina se

preparaba a partir del páncreas, generalmente de bóvidos y cerdos. Mientras en la Argentina, en 1993 Eduardo H. Charreau crea la primera unidad de vinculación tecnológica del país en la Fundación IBYME, acción que sería vital en la historia de la insulina nacional.

La Argentina necesita importar la insulina recombinante necesaria para sus 400.000 enfermos de diabetes insulino dependientes, y en este marco surge un nuevo proyecto en IBYME: la formulación de una insulina nacional. Así es que la idea de Houssay cobra nueva vida y la Fundación IBYME se propone la síntesis y producción de una insulina recombinante humana totalmente argentina estableciendo un convenio a partir de 1996. Charreau será ahora el motor, como lo fuera antes Houssay, y Néstor Annibali, Mercedes Goin y Claudia Trejo, entusiasmados por él, serán los nuevos Sordellis y Deloufeus. En este escenario reciben apoyo financiero de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y el Conicet. Y entran como contraparte del convenio nuevos agentes, las empresas biotecnológicas. El laboratorio Beta con Francisco Stefani, discípulo de Houssay y director de la empresa, financia los primeros desarrollos en IBYME, seguido por la empresa Denver Farma que escala la producción y financia la segunda parte del desarrollo.

El aporte original para lograr esta patente fue la elección del sistema de expresión. En general se usan bacterias *E. coli* modificadas genéticamente como vector de expresión. En este sistema, el precursor de insulina sobreexpresado requiere pasos posteriores de solubilización y plegado oxidativo. También se usan sistemas de expresión basados en levaduras (principalmente *Saccharomyces cerevisiae*) en los cuales el precursor de insulina es secretado al sobrenadante y su plegado es correcto. Es por ello que la mitad de la

insulina mundial deriva de *Saccharomyces cerevisiae*. Sin embargo, los pasos para recuperación y purificación de la insulina son también complicados. El proyecto de IBYME/Conicet/Beta/Denver utilizó la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* con características especiales para la producción de proteínas heterólogas, como su capacidad de llegar a altas densidades celulares y elevadas cantidades de producción de proteínas bajo el control de promotores fuertes y altamente regulados. En 2017 el proyecto pasa del IBYME al escalado para la producción en planta en Garín.

La línea de trabajo de la insulina fue una constante en el IBYME, iniciada por Houssay y continuada por Virgilio Foglia, quien descubrió que aparecían



Intervención artística a cargo de Patricia Saragueta en la biblioteca Houssay del Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME). Tres etapas de la vida de Houssay, premio Nobel de medicina y fundador del Instituto.

cambios de la glucosa en la sangre antes de manifestarse clínicamente la diabetes, y Alejandro F. De Nicola, quien estudió la patología del sistema nervioso central que se desarrollaba por la ausencia de insulina. Otros grupos más recientes del Instituto fundado por Houssay continúan trabajos relacionados con insulina, como Becu, Rulli, Libertun, Lux-Lantos y Saravia. Merece una mención especial en la historia de la insulina relacionada a Houssay Juan José Gagliardino. Comenzó trabajando con Ricardo Rosendo Rodríguez, un discípulo directo de Houssay, en la Facultad de Medicina de Universidad Nacional de La Plata, por lo que se lo puede considerar un nieto científico de Houssay. Gagliardino no solo tiene estudios mundialmente reconocidos sobre la regulación molecular, bioquímica y funcional de la secreción de insulina por islotes aislados de células beta, sino que a lo largo de su vida participó de varios programas de índole social. Desde el Centro de Educación Terapéutica Bernardo A Houssay (CBAH) y el Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada del que fue director por 37 años, participó en la educación y el tratamiento de pacientes con diabetes. De gran relevancia en la historia de la insulina y diabetes en la Argentina fue la creación de la Sociedad Argentina de Diabetes en 1954, cuyo primer presidente fue Pedro Landabure (aquel médico que había supervisado los efectos de la inyección de insulina en la primera paciente) y el segundo, Virgilio G Foglia. Luego, se creó en 1972 la Federación Argentina de Diabetes, que nuclea a las asociaciones nacionales de pacientes y familiares de diabéticos.

Para culminar, queremos destacar que la historia argentina de la producción de insulina que nace con la gesta de Houssay rescata una faceta no tan bien conocida del científico: su voluntad por realizar proyectos biotecnológicos de alcance social. Por ejemplo, siendo un investigador básico experimental, él pensaba que para el futuro de la endocrinología se deberían encarar proyectos de índole clínico y social (ampliación de las apli-



Eduardo H Charreau en ocasión de presentar el caso exitoso en la interacción público-privada: producción nacional de insulina humana recombinante. IBYME, 2017.

caciones de los hormonoides en la limitación de la natalidad en los países superpoblados, medicina social y preventiva, acción de las hormonas sobre el sistema nervioso central y funciones psíquicas) y, también, aquellos de importancia en la producción de alimentos. Entre otras ideas, remarcaba la relevancia de estudios en endocrinología que apuntasen a aumentar la fertilidad en los animales de labranza, el incremento de la producción y calidad de las carnes y aves de consumo, el mejoramiento de las condiciones de las pieles y finalmente, la regulación de la ovulación en la industria pesquera.

Estas líneas de pensamiento preclaro que apuntan a las necesidades de la sociedad señalan la importancia de la confluencia de las investigaciones básicas, biotecnológicas, clínicas y de la industria farmacéutica, para llevar a buen puerto una solución cuasi definitiva para una enfermedad que afecta no solamente al 10% de nuestros connacionales sino también al resto de la humanidad. **CH**

Agradecemos a Flavia Hernández del Departamento de Comunicación del IBYME por las imágenes incluidas en este artículo.

LECTURAS SUGERIDAS

BANTING, FG y BEST CH, 1987, 'The internal secretion of the pancreas', *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 7, 5: 251-266.

BEST, CH, 1960, 'Forty years of interest in insulin', *British Medical Bulletin*, 16, 3: 179-182.

BARRIOS MEDINA, A (coord.), 1997, *Bernardo Alberto Houssay: primer premio Nobel científico argentino*, Buenos Aires, CD, 1997. Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto. Universidad Nacional de Quilmes.



Damasia Becu-Villalobos

Doctora en bioquímica, UBA.
Investigadora superior del Conicet, Laboratorio de Regulación Hipofisaria, IBYME.
dbecu@dna.uba.ar



Alejandro Federico De Nicola

Doctor en medicina, UBA.
Investigador superior emérito del Conicet.
Profesor emérito de la UBA.
alejandrodenicola@gmail.com