

История инсулина – история надежды

Г.С. Аникин^{1,2}, И.В. Стожкова¹

¹ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

² ФК ОО «Хадасса Медикал ЛТД», Москва, Россия
medi321@mail.ru

Аннотация

Инсулинотерапия зачастую составляет основу лечения сахарного диабета. Открытие инсулина дало надежду многим пациентам с данной патологией, но до этого человечество прошло длинный и тернистый путь. Об этом пути мы и хотели бы рассказать в нашей статье.

Ключевые слова: сахарный диабет, инсулин, эндокринология.

Для цитирования: Аникин Г.С., Стожкова И.В. История инсулина – история надежды. FOCUS Эндокринология. 2021; 3: 48–51. DOI: 10.47407/ef2021.2.3.0034

History of insulins, history of hope

Georgii S. Anikin^{1,2}, Irina V. Stozhkova¹

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia;

² Hadassah Medical Ltd., Moscow, Russia
medi321@mail.ru

Abstract

Insulin therapy often constitutes the basis for treatment of diabetes mellitus. The discovery of insulin gave hope to many patients with this disorder, however, it had been a long and winding road for the humanity. That road is what we wanted to describe in our paper.

Keywords: diabetes mellitus, insulin, endocrinology.

For citation: Anikin GS, Stozhkova IV. History of insulins, history of hope. FOCUS Endocrinology. 2021; 3: 48–51. DOI: 10.47407/ef2021.2.3.0034

Открытие инсулина стало настоящим прорывом, за которым последовала настоящая революция как в терапии, так и в прогнозе диабета. Важная веха в развитии медицины связана как с большими разочарованиями, так и с не менее большими надеждами. История открытия инсулина – это история неудач, открытий, интуитивных прозрений и споров среди ученых. По словам А.Р. Колвелла, появление инсулина ознаменовало конец «эры разочарования», открыв дорогу новой эре и клиническим достижениям [1].

Изучение сахарного диабета, а также поиск методов и средств для его лечения начинаются в эпоху Древнего Египта. В манускриптах 2050–1650 гг. до н. э. «Кахунских папирусов» приводится рецепт под названием «Лечение женщин, испытывающих жажду». Позже, в папирусе Эберса (приблизительно 1552 г. до н.э.), названном по имени ученого, который его перевел и описал, впервые упоминаются характерные признаки диабета, такие как жажда, частое мочеиспускание и внезапная потеря массы тела, а также 4-дневный курс лечения отваром костей, пшеницы, песка, зеленого свинца и земли [2, 3].

В трудах древнеиндийских врачей примерно V–IV вв. до н.э. упоминаются также случаи чрезмерного выделения мочи, причем впервые замечен ее сладкий вкус, состояние сопровождалось истощением и сильной жаждой. Индийские врачи даже изобрели первый клинический тест на диабет: они заметили, что моча пациентов привлекает муравьев и мух. Также наблюдали диабет, который они называли «мадгумега» – сладкая моча, им чаще

страдали богатые люди, которые ели много риса, круп и сладостей и вели малоподвижный образ жизни. Таким образом, были описаны и первые факторы риска.

Впервые термин «диабет» в практику ввел римский врач Аретеус (Аретей) Каппадокийский (138 г. н. э.). Он заметил, что больные диабетом 1-го типа сильно худеют, много пьют и часто мочатся, таким образом, жидкость «проходит как сквозь открытые водопроводные трубы» [2]. Аретеус дал название этому состоянию «diabetes», дословно «проходящий сквозь, сифон». Также он отмечал, что у одних, в основном детей и молодых мужчин, симптомы возникали внезапно и проявлялись с особой силой; жизнь их была коротка и мучительна. Другие же подвергались болезни в зрелом возрасте, и их состояние улучшалось во время голодной диеты, физических упражнений и употребления смеси семян люпина и пажитника. Термин «сахарный диабет» был введен в 1674 г. британским врачом Томасом Уиллисом, отмечавшим особый сладкий вкус мочи у больных. Он предположил, что некая сладость попадает в мочу из крови, что делало сахарный диабет болезнью крови, а не почек, как считалось ранее [2, 4]. Только в 1776 г. Ливерпульский натурфилософ и физиолог М. Добсон установил, что сладковатый вкус мочи и сыворотки крови связаны с повышенным количеством сахара. Именно после этого диабет стал называться сахарным.

В конце XVIII – начале XIX в. активно развивались методики лечения сахарного диабета через ограничения в питании и рациональной диете. Таким образом, до откры-

тия инсулина в распоряжении врачей были лишь голодание, физический труд и некоторые растения со слабым гипогликемическим действием.

Огромным шагом в понимании заболевания стала работа Пауля Лангерганса в 1869 г. В своей диссертации о строении поджелудочной железы он впервые описал ацинозные клетки, секретирующие пищеварительные ферменты, и «островки» иных клеток, которые впоследствии получили его имя. Однако в то время П. Лангерганс не предполагал, какую именно функцию выполняют эти островки. Через некоторое время О. Минковский и Дж. фон Меринг, проведя ряд экспериментов по резекции поджелудочной железы у собак, показали связь диабета с поджелудочной железой [5]. После этого началось активное изучение поджелудочной железы и ее секреции. Многие исследователи стали пытаться лечить диабет с помощью экстрактов поджелудочной железы, однако результаты были неутешительными. По различным оценкам, в период 1890–1910 гг. над решением этого вопроса трудились около 400 исследователей [5, 6].

В 1890 г. французский физиолог и эндокринолог Эжен Глей решил проверить гипотезу о веществе, выделяемом клетками островков Лангерганса и способном препятствовать выведению глюкозы с мочой. Изначально он использовал водный экстракт всей поджелудочной железы, а затем выделил исключительно ткань островков в виде экстракта для инъекций. Свои эксперименты Э. Глей проводил на собаках, у которых развился диабет после резекции поджелудочной железы. В ходе опытов Э. Глей отмечал уменьшение глюкозурии после инъекции, а также значительное снижение других симптомов диабета [3].

В 1907 г. немецкий врач Георг Людвиг Зульцер (1870–1949) провел панкреатэктомию собаке, после чего ввел экстракт поджелудочной железы. Таким образом, ему удалось снизить уровень глюкозурии и повысить рН крови. Г. Зульцер запатентовал свое изобретение в США под названием «Акоматол». С помощью этого препарата ему удалось спасти жизнь больному сахарным диабетом, находившемуся в коме. Поскольку Акоматол содержал большое количество примесей, от его приема наблюдались выраженные побочные эффекты, и фармацевтическая компания Schering отказалась от него. Г. Зульцер продолжил свои эксперименты и разработал новый экстракт для Hoffmann-La Roche, который, однако, вызывал судороги, скорее всего, из-за гипогликемического эффекта [5].

Одними из важных в истории открытия инсулина являются исследования Николаса Паулеску. Он ввел экстракт поджелудочной железы собаке, страдающей диабетом, и получил снижение уровня сахара в крови с 140 до 26 мг%. Собака умерла от гипогликемии. Во время Первой мировой войны румынский исследователь не мог опубликовать свои работы до 1921 г. Для данной активной гипогликемической субстанции было предложено название «панкреатин» [2, 4]. Эксперименты Н. Паулеску не нашли полного клинического применения у людей, поскольку он не стал продолжать свои опыты. Успех

Н. Паулеску на пути открытия инсулина остается исторически признанным.

Все исследователи, использовавшие экстракты и вытяжки поджелудочной железы, получали гипогликемический эффект, однако у пациентов развивались токсические реакции после введения препаратов. Симптомы гипогликемии часто оставались нераспознанными и приводили к летальному исходу, а в местах инъекций развивались асептические абсцессы.

В начале XX в. не оставалось сомнений, что некая субстанция с выраженным гипогликемическим эффектом вырабатывается островковыми клетками. Однако трудность, с которой столкнулись все ученые, заключалась в отделении экстракта необходимых клеток от остальной экзокринной ткани поджелудочной железы. В 1921 г. молодому канадскому хирургу Фредерику Бантингу пришла идея, как получить секрет островковых клеток без примесей. Во время совместной работы с Ч. Бестом и Дж.Б. Коллипом удалось добиться дегенерации экзокринной ткани поджелудочной железы и получить островок Лангерганса в чистом виде. Экстракт из этих клеток получил название ислетин. Инъекции ислетина снижали уровень глюкозы в крови, а также приостанавливали кетогенез [6]. 11 января 1922 г. Ф. Бантинг и Ч. Бест начали проводить клинические испытания: они ввели экстракт Леонарду Томпсону, 14-летнему мальчику, страдавшему диабетом и весившему тогда всего 29 кг. После первой инъекции 15 см³ «густой коричневой» жидкости в ягодичную мышцу у парня образовался абсцесс. В следующий раз, 23 января, ему ввели более очищенный экстракт, полученный методом Коллипа. На этот раз лечение было успешным: через 24 ч уровень сахара в крови Л. Томпсона упал с 520 до 120 мг/дл, а кетоны исчезли из мочи. Хотя Леонард Томпсон умер в возрасте всего 27 лет от пневмонии, другие пациенты Ф. Бантинга и Ч. Беста дожили до старости. Например, Тед Райдер, один из первых четырех детей, которым делали инъекции инсулина, умер в 1993 г. в возрасте 76 лет.

В 1922 г. доктор Дж. Уолден при помощи метода электроосаждения смог получить более чистый осадок, названный инсулином. В это же время Дж.Б. Коллип разработал метод анализа уровня глюкозы с использованием небольших количеств плазмы крови, что сделало возможным частое измерение у пациентов с диабетом. В ходе экспериментов Ф. Бантинг и Ч. Бест получили препараты инсулина короткого действия (около 6 ч) с неизбежными последующими пиками гипергликемии и глюкозурии в течение 24 ч. В 1930-х гг. Г.Х. Хагедорн получил медленно усваиваемый инсулин, но препарат был нестабильным и трудным в использовании. Впоследствии Скотт и Фишер смогли получить стабильный инсулин с длительным профилем абсорбции (эффект длился до 48 ч) [7].

Открытие инсулина стало настоящей сенсацией, встреченной с большим энтузиазмом во всем мире. В прессе описаны многочисленные случаи выздоровления. Ранее приговоренные к досрочной смерти диабетика теперь могли жить. Также в это время начали формироваться

организации для людей с диабетом. Первая такая организация, основанная португальским врачом Эрнесто Рома и получившая название «Португальская ассоциация защиты малообеспеченных диабетиков», стремилась предоставлять бесплатный инсулин малоимущим. Британская диабетическая ассоциация была создана в 1934 г. Оба основателя – доктор Роберт Лоуренс и писатель Герберт Уэллс – были диабетиками. В 1940 г. в США была организована Национальная диабетическая ассоциация, которая после включения канадских врачей была переименована в Американскую диабетическую ассоциацию. Ее цель заключалась в координации усилий врачей по борьбе с диабетом.

В 1922 г. лауреат Нобелевской премии Август Крог и его супруга Мари, у которой недавно был диагностирован диабет, посетили Соединенные Штаты. От диабетолога Эллиота Джослина они узнали о новом лекарстве, изобретенном группой из Торонто. Супруги отправились в Канаду, где посетили лабораторию Маклауда, а когда вернулись на родину в Данию, они основали компанию Nordisk Insulin. Дания занимает второе место в мире по производству инсулина после США.

Достижения в методах очистки инсулина, а также сочетаний его с цинком и протаминами, привели к появлению пролонгированных форм, что позволило сократить количество ежедневных инъекций. Но на этом изучение инсулина не остановилось. В 1958 г. британскому биохимику Ф. Сенгеру удалось полностью секвенировать бычий инсулин и открыть его точный состав с точки зрения аминокислот, а Д.М. Кроуфорд-Ходжкин при помощи рентгеновской кристаллографии открыла физическую структуру инсулина, т.е. его пространственное строение.

В 1966 г. стал доступным полный прямой синтез полипептидных цепей инсулина с чистотой продукта около 70% [7, 8]. Впоследствии были проведены эксперименты по преобразованию свиного инсулина с использованием ферментативного расщепления.

До 1980-х гг. животные инсулины, полученные из поджелудочной железы крупного рогатого скота и свиней, входили в состав всех инсулиновых препаратов. Наличие животных инсулинов приводило к иммунологическим реакциям (аллергические реакции, иммуноопосредованная липоатрофия в месте инъекции и антителоопосредованная резистентность к инсулину) и значительной вариабельности фармакокинетики и фармакодинамики. Усовершенствование методов получения и детальное изучение строения молекулы привели к возможности синтезировать инсулин с химической человеческой структурой с использованием генетической модификации бактерий [1]. В первых методах использовался раздельный синтез цепей генно-модифицированными *Escherichia coli* с последующим сочетанием цепей химическими способами. Затем был синтезирован проинсулин человека, подвергавшийся ферментативному расщеплению С-пептида. В 1980 г. рекомбинантная ДНК (рДНК) человеческого инсулина была впервые протестирована на выборке из 17 добровольцев, а с 1982 г.

пациентам с диабетом стали доступны синтетические инсулины, в меньшей степени вызывающие аллергические реакции.

В 1980–90-х гг. были произведены аналоговые инсулины, т.е. генетически модифицированные формы, где аминокислотные последовательности изменены для оптимизации всасывания, распределения, метаболизма и введения инсулина [7]. Эти модификации привели к получению двух типов аналогов инсулина: первый легче всасывается из места инъекции, следовательно, быстрее действует, что обеспечивает болюсный уровень инсулина, необходимый во время еды (прандиальный инсулин); второй тип высвобождается медленно в течение 8–24 ч, чтобы обеспечить базальный уровень в течение дня, особенно в ночное время.

Первый аналог (рДНК инсулина Lispro), одобренный для терапии человека в 1996 г. под торговым названием Humalog, не изменял связывание рецептора инсулина, но блокировал образование димеров и гексамеров инсулина. Это позволило увеличить количество активного инсулина для постпрандиальных инъекций [9]. Затем был создан аспарт NovoLog, где в рекомбинантной ДНК аминокислота в положении В28 была заменена остатком аспарагиновой кислоты. Данную последовательность вставляли в геном дрожжей, которые, в свою очередь, уже и экспрессировали аналог инсулина более быстрого действия [10]. В 2004 г. был одобрен и выпущен глутинин под коммерческим названием Apidra. Этот рекомбинантный аналог отличается тем, что аргинин в положении В3 заменен лизином, а лизин в положении В29 заменен глутаминовой кислотой. Эти структурные модификации уменьшают образование гексамеров, увеличивают скорость абсорбции и начала действия по сравнению с человеческим инсулином [11].

Первый аналог инсулина пролонгированного действия, известный как гларгин (Lantus), был получен путем модификации 3 аминокислот, что сделало гларгин менее растворимым при физиологическом pH. В результате при введении в подкожном пространстве образуются агрегаты более высокого порядка, что приводит к медленному, беспииковому растворению и всасыванию инсулина из места инъекции [7].

Что касается безыгольных форм, то первый ингаляционный инсулин (Exubera) был разработан в 2006 г. Идея введения инсулина путем вдыхания аэрозоля привела к разработке сухого порошка с характеристиками частиц для осаждения в альвеолах. Вдыхаемый инсулин имеет низкую биодоступность (около 9% от вдыхаемого количества), но приводит к адекватным уровням инсулина в сыворотке, что показывает эффективность на уровне подкожно вводимого инсулина для контроля уровня глюкозы при диабете как 1-го, так и 2-го типа [12].

Еще один многообещающий продукт – инсулин для буккального применения. Технология доставки смеси инсулина, поверхностно-активных веществ и липидов со слизистой оболочки щеки реализована в Оралине (пероральный инсулиновый спрей, RapidMist) [13].

Заключение

Открытие инсулина произвело настоящую революцию, которая подарила надежду людям в борьбе с диабетом и ознаменовала конец «эры разочарования». Сейчас доступны многочисленные аналоги с широким диапазоном фармакологического действия, от очень быстрых форм для покрытия скачков глюкозы после приема пищи до базальных инсулинов очень длитель-

ного действия. Биосинтетические аналоги вместе со вспомогательными веществами обещают привнести лучшие изменения в свойства препаратов, а также облегчить использование, благодаря новым способам введения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare that there is not conflict of interests.

Литература / References

1. Colwell AR. *The Banting Memorial Lecture 1968: Fifty Years of Diabetes in Perspective*. *Diabetes* 1968; 17 (10): 599–610. DOI: 10.2337/diab.17.10.599
2. Костяков С.Е., Демяненко А.Н. Исторические предпосылки открытия инсулина. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2013; 12 (3): 90–7. [Kostiakov S.E., Demianenko A.N. *Istoricheskie predposylki otkrytiia insulina. Vestnik Smolenskoi gosudarstvennoi meditsinskoi akademii*. 2013; 12 (3): 90–7 (in Russian)].
3. Vecchio I, Tornali C, Bragazzi NL, Martini M. *The Discovery of Insulin: An Important Milestone in the History of Medicine*. *Front Endocrinol* 2018; 9: 1–8. DOI: 10.3389/fendo.2018.00613
4. Сорокина Л.А. У истоков открытия инсулина. *Артериальная гипертензия*. 2010; 5: 26–8. [Sorokina L.A. *U istokov otkrytiia insulina. Arterial'naia gipertenziia*. 2010; 5: 26–8 (in Russian)].
5. Karamitsos DT. *The story of insulin discovery*. *Diabet Res Clin Pract* 2011; 93: S2–S8. DOI: 10.1016/s0168-8227(11)70007-9
6. Bliss M. *The Discovery of Insulin*. Chicago: The University of Chicago Press, 1982.
7. Lapolla A, Dalfrà MG. *Hundred Years of Insulin Therapy*. *Am J Therapeut* 2020; 27 (1): e24–e29. DOI: 10.1097/mjt.0000000000001081
8. Kung K, Do Y, Huang W. *Total synthesis of crystalline insulin*. *Scientia Sinica* 1966; 15: 544–61.
9. Howey DC, Bowsher RR, Brunelle RL et al. *Lispro [Lys(B28), Pro(B29)]-human insulin: a rapidly absorbed analogue of human insulin*. *Diabetes* 1994; 43: 396–2.
10. Simpson KL, Spencer CM. *Insulin aspart*. *Drugs* 1999; 57: 759–65.
11. Barlocco D. *Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for the treatment of type 2 diabetes and obesity: recent advances*. *Curr Opin Investig Drugs* 2003; 4: 1240–4.
12. Fala L. *Afrezza (insulin human) inhalation powder approved for the treatment of patients with type 1 or type 2 diabetes*. *Am Health Drug Benefits* 2015; 8: 40–3.
13. Modi P, Mihic M, Lewin A. *The evolving role of oral insulin in the treatment of diabetes using a novel RapidMist system*. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18 (Suppl. 1): S38–42. DOI: 10.1002/dmrr.208

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / Information about the authors

Аникин Георгий Станиславович – канд. мед. наук, доцент, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет), врач-клинический фармаколог, ФК ООО «Хадасса Медикал ЛТД». E-mail: medi321@mail.ru

Georgii S. Anikin – Cand. Sci. (Med.), Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Medical center Hadassah Medical LTD. E-mail: medi321@mail.ru

Стожкова Ирина Владимировна – врач-оториноларинголог, аспирант, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет)

Irina V. Stozhkova – Graduate Student, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

Статья поступила в редакцию / The article received: 04.12.2020

Статья принята к печати / The article approved for publication: 17.08.2021