



Tesis doctoral

**“EL DESARROLLO DE LA INSULINA DURANTE
SUS PRIMEROS CINCUENTA AÑOS DE HISTORIA.
UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA”**

D. Carlos Pérez Gutiérrez

Programa de Doctorado en Investigación Aplicada a las
Ciencias Sanitarias por la Universidad de Las Palmas de
Gran Canaria, la Universidad de León y la Universidade de
Tras-Os-Montes e Alto Douro (Portugal)

Directores:

Dra. María José García Iglesias

Dr. Juan Carlos Álvarez Torices

León, 2018



La insulina fue uno de los primeros “fármaco maravilla” del siglo XX que transformó una situación letal en un problema crónico

Feudtner, 2003

“La felicidad del cuerpo se fundamenta en la salud, la del entendimiento en el saber”

Tales de Mileto, siglo VI a.C.

De un viernes de tertulia salió la idea de esta tesis, junto con el empecinamiento y el cariño de Juan Carlos Álvarez Torices, María José García Iglesias, María José Díez Liébana, Julen Susperregui Lesaca y Maripaz González Fernández, mi irremplazable esposa. Todos ellos, amigos de verdad, quienes me propusieron y animaron a iniciar esta pequeña aventura.

Quiero agradecer especialmente a mis directores de tesis, Juan Carlos y María José, por tener la paciencia y el empeño que ha permitido concluir este trabajo y hacer buena la frase de Francisco de Quevedo “No es sabio el que sabe dónde está el tesoro, sino el que trabaja y lo saca”.

A mi familia, que lo es todo para mí, por lo que deseo que esta tesis sea un pequeño legado para mis hijos Diego y Paula.

A mi perro Crispín, incansable compañero en las horas de trabajo.

ÍNDICE GENERAL

1. Resumen.....	19
2. Abstract.....	23
3. Introducción.....	27
3.1. La diabetes y su importancia.....	29
3.2. Diabetes y sociedad.....	30
3.3. Historia de la diabetes.....	32
3.3.1. Antiguo Egipto.....	32
3.3.2. La medicina Greco-Romana.....	33
3.3.3. India.....	35
3.3.3. Bizancio.....	35
3.3.4. China.....	36
3.3.5. Medicina árabe.....	36
3.3.6. Edad Media en Europa.....	37
3.3.7. Desde la Edad Moderna hasta 1889.....	37
3.4. La insulina.....	39
4. Objetivos.....	43
5. Material y métodos.....	47
6. Resultados y discusión.....	63
6.1. Selección de artículos.....	65
6.2. Los primeros pasos hacia la insulina.....	66
6.3. Las insulinas.....	71
6.3.1. Insulina regular o amorfa.....	71

6.3.2. Insulina cristalina o soluble.....	83
6.3.3. Insulina oral y otras vías no inyectables.....	89
6.3.4. Insulina con lecitina y otros lípidos.....	91
6.3.5. Insulina unida a grandes cantidades de proteínas.....	92
6.3.6. Insulina vehiculada en una solución de goma arábica..	92
6.3.7. Insulina unida a metales (cobalto, níquel y hierro).....	92
6.3.8. Insulina unida a aceite de arachis (cacahuete).....	93
6.3.9. Insulina unida a aceite de ricina.....	93
6.3.10. Insulina añadida a Lypinsel®	93
6.3.11. Fármacos para disminuir la cantidad de insulina necesaria: el Piramidón®	94
6.3.12. Insulina asociada a vasoconstrictores.....	94
6.3.13. Insulina cristalina zinc.....	94
6.3.14. Unión de insulina a caseosan, Novoprotin® y suero....	96
6.3.15. La “Durant Insulin®”	96
6.3.16. Insulina iodada.....	96
6.3.17. La insulina gelatina al 1 % y la insulina zinc gelatina...	97
6.3.18. La hexametilentetramina insulina.....	97
6.3.19. Insulina protamina.....	97
6.3.20. El tanato de insulina al 0,2 % o ácido insulínico-tánico- zinc.....	102
6.3.21. La protamina-zinc-insulina, insulina zinc protamina o PZI/IPZ/IZP.....	103
6.3.21.1. PZI turbia.....	103
6.3.21.2. PZI clara.....	111
6.3.22. Insulina precipitada en aluminio.....	111

6.3.23. Insulinas con sustancias lipóideas.....	112
6.3.24. Insulina con aminoquinurida (Surfen®).....	112
6.3.25. Derivados azoicos de la insulina.....	113
6.3.26. La arginina insulina.....	113
6.3.27. Insulina con pectina: Decurvon®.....	114
6.3.28. Insulina con adrenalina y extractos del lóbulo posterior de la pituitaria.....	114
6.3.29. La insulina hexamina.....	115
6.3.30. La histona zinc insulina.....	115
6.3.31. La insulina globina zinc.....	116
6.3.32. Insulina precipitada con cloroformo.....	119
6.3.33. Subtosan-insulina o polivinil-insulina.....	120
6.3.34. Insulina NP50 o MPZ.....	120
6.3.35. Insulina NPH50, insulina porcina isofánica protamina neutra Hagedorn o insulina NPH.....	121
6.3.36. Iso-insulina y Di-insulina.....	126
6.3.37. Mezclas comerciales.....	127
6.3.38. Insulinas Lente.....	128
6.3.39. Insulina U-500.....	140
6.3.40. La nueva insulina rápida: Actrapid.....	143
6.3.41. Insulina sintética.....	144
6.3.42. Insulinas ultrapurificadas.....	146
6.3.43. Insulina sulfatada.....	151
6.3.44. Pautas de insulinoterapia.....	152
6.3.45. El inicio de la insulina humana.....	155

6.3.46. El problema de la estandarización de las concentraciones de insulina en los viales.....	159
6.4. La insulina para su empleo en veterinaria.....	161
6.5. El empleo de la insulina para indicaciones diferentes de la diabetes.....	164
6.5.1. Endocrinología y metabolismo.....	164
6.5.2. Reumatología.....	165
6.5.3. Psiquiatría y neurología.....	165
6.5.4. Enfermedades infecciosas.....	168
6.5.5. Cirugía.....	168
6.5.6. Cardiología.....	169
6.5.7. Aparato digestivo.....	169
6.5.8. Dermatología.....	170
6.5.9. Ginecología.....	170
7. Conclusiones.....	173
8. Futuras líneas de investigación.....	179
9. Bibliografía.....	183
10. Anexo. Glosario.....	217

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.-	Parte del Papiro de Ebers.....	33
Figura 2.-	Los “padres” de la medicina occidental: Hipócrates, Celso y Galeno.....	35
Figura 3.-	Estructura de la proinsulina.....	40
Figura 4.-	La misma niña, portadora de una diabetes, antes y después del tratamiento con insulina.....	41
Figura 5.-	Flujo de elección de artículos.....	66
Figura 6.-	Oskar Minkowsky, Josef Von Mering, Georg Ludwig Zuelzer y Nicolae Paulescu.....	70
Figura 7.-	Laboratorio donde se trabajó con la primera insulina de aplicación clínica. Banting con uno de los perros.....	71
Figura 8.-	“The Dream Team” de la insulina: Frederick Grant Banting, John James Rickard McLeod, James Bertram Collip y Charles Herbert Best en la época del descubrimiento de la insulina...	72
Figura 9.-	A la izquierda Leonard Thompson antes y después del tratamiento con insulina. A la derecha James Havens en 1921. Sería el primer americano que recibió insulina en EE.UU.....	73
Figura 10.-	Recorte del periódico Toronto Daily Star en el que se da la noticia sobre el tratamiento en Toronto de la hija del Secretario de Estado de EE.UU.....	74
Figura 11.-	El ingeniero químico George Walden, John Macleod con George Clowes y fabricando insulina en los laboratorios Lilly en 1924.....	75
Figura 12.-	Varias de las primeras insulinas disponibles.....	78
Figura 13.-	Los implicados en el inicio de la insulina en Dinamarca: Schack August Steenberg Krogh, Hans Christian Hagedorn, Harald y Thorvald Pedersen.....	79
Figura 14.-	Efecto de la insulina regular (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos.	82

Figura 15	Cristal de insulina obtenido por John J. Abel con ácido acético y piridina.....	84
Figura 16.-	Perfil de la insulina cristalina frente a la insulina amorfa.....	86
Figura 17.-	Procedimiento para el autocontrol de la glucosuria en los años 30-40.....	102
Figura 18.-	Efecto de la insulina protamina zinc (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos.....	104
Figura 19.-	Acción de la insulina protamina zinc.....	104
Figura 20.-	Comparación de insulina regular cristalina, insulina arginina e insulina arginina con zinc.....	114
Figura 21.-	Diferencias en la acción de la insulina protamina zinc (PZI) y la insulina histona zinc.....	116
Figura 22.-	Efecto de la insulina globina (Laboratorios Burroughs Wellcome) en voluntarios sanos.....	117
Figura 23.-	Comparación del efecto sobre la glucemia de la insulina regular, la insulina globina y la PZI. A la derecha la gráfica aportada por Wright y Montag en 1950 y a la izquierda la de Ghosh <i>et al.</i> de 1947.....	119
Figura 24.-	Efecto de la NPH 50 (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos.....	122
Figura 25.-	Efecto de la NPH 50 (Laboratorios Lilly) en voluntarios sanos.....	123
Figura 26.-	Acción de la insulina NPH.....	123
Figura 27.-	Insulina NPH. Cristales en los que se basa su acción a 244 aumentos.....	124
Figura 28.-	Efecto de la Di-insulina (Laboratorios Novo) en voluntarios sanos.	127
Figura 29.-	Efecto de la Iso-insulina (Laboratorios Novo) en voluntarios sanos.	127
Figura 30.-	Efecto de las mezclas comerciales (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos.....	128

Figura 31.-	Los tres inventores de las insulinas Lente: Knud Hallas-Møller, Jørgen Schlichtkrull y Karl Pedersen.....	130
Figura 32.-	Control con insulina Lente a lo largo de los años de empleo según las características clínicas del paciente.....	133
Figura 33.-	Grado de control que se lograba al pasar a insulina Lente en función del grado de diabetes y del tratamiento previo.....	134
Figura 34.-	Comparación de Lente y NPH. A la izquierda control a largo plazo con dosis individualizadas y a la derecha con la misma dosis. Estudio realizado con datos pareados.....	135
Figura 35.-	Efecto de la insulina Lente junto a insulina regular en la misma o en diferente jeringuilla	136
Figura 36.-	Primer paso en la producción de insulina, la selección y triturado de los páncreas animales.....	137
Figura 37.-	Insulina U-500 de Lilly en formato vial de Iletin II® y la actual Humulin R U-500® tanto en pluma KwikPen® como en vial, sólo disponible en EE.UU.....	142
Figura 38.-	Acción de las insulinas Actrapid y Cristal II.....	144
Figura 39.-	Estructura bidimensional de la insulina bovina publicada por Frederick Sanger y tridimensional descubierta por Dorothy Crowfoot Hodgkin.....	145
Figura 40.-	Unidades de insulina empleadas a lo largo de 12 meses cuando la insulina era estándar o monocomponente.....	150
Figura 41.-	Pautas de insulina más empleadas en el Reino Unido a finales de los años 70.....	153
Figura 42.-	Diferentes jeringuillas para insulina existentes a mitad de los años cuarenta.....	160

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.-	Resumen de la metodología empleada siguiendo el protocolo actual de PRISMA-P.....	59
Tabla 2.-	Zinc y proteínas en las distintas insulinas y análogos.....	85
Tabla 3.-	Insulinas existentes a finales de los años 40.....	120
Tabla 4.-	Características de diferentes insulinas.....	126
Tabla 5.-	Características de las insulinas Lente.....	130
Tabla 6.-	Clasificación de las insulinas en 1953.....	138
Tabla 7.-	Propiedades químicas de las insulinas.....	139
Tabla 8.-	Propiedades clínicas de las insulinas.....	139
Tabla 9.-	Cantidad real de insulina por mililitro de las diferentes insulinas lentas.....	146
Tabla 10.-	Características de la insulina NPH según diversas fuentes.....	147
Tabla 11.-	Insulinas de acción rápida comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70.....	148
Tabla 12.-	Insulinas de acción intermedia comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70.....	149
Tabla 13.-	Insulinas de acción prolongada comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70.....	149
Tabla 14.-	Variabilidad admitida en las distintas insulinas. Obsérvese como algunas de las denominaciones podían dar lugar a frecuentes confusiones entre insulinas muy distintas en sus características.....	151
Tabla 15.-	Soluciones de insulina de acción rápida o corta, que requieren tres inyecciones al día.....	153
Tabla 16.-	Suspensiones de insulina de acción semilenta o intermedia, que requieren dos inyecciones por día.....	154

Tabla 17.-	Suspensiones de insulina de acción lenta y prolongada, que requieren una sola inyección al día.....	154
Tabla 18.-	Resumen de las insulinas previas a la insulina humana.....	157
Tabla 19.-	Características farmacológicas de las insulinas que a lo largo del tiempo han tenido una importancia relevante por su uso clínico.....	158
Tabla 20.-	Presentaciones disponibles de insulina y sus concentraciones a finales de los años 50.....	159
Tabla 21.-	Diferencia en aminoácidos entre las distintas especies animales. Se destacan en verde las diferencias.....	161
Tabla 22.-	Perfiles de las distintas insulinas autorizadas en los pequeños animales.....	163
Tabla 23.-	Resumen de las antiguas indicaciones, a parte de la diabetes, de la insulina.....	171

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association.
DM1	Diabetes de tipo 1.
DM2	Diabetes de tipo 2.
EE.UU.	Estados Unidos.
EMA	European Medicines Agency.
FDA	Food and Drug Administration.
IPZ	Insulina Protamina Zinc.
IZP	Insulina Protamina Zinc.
MC	Monocomponente.
NPH	Insulina Protamina Neutra Hagedorn.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PRISMA	Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses.
PROSPERO	International Prospective Register of Systematic Reviews.
PZI	Insulina Protamina Zinc.
U/UI	Unidad/Unidad internacional.

1. RESUMEN

La diabetes es una enfermedad que ha acompañado al ser humano a lo largo de la historia. Si bien hace siglos su prevalencia era casi anecdótica, en la actualidad supone prácticamente una epidemia. El descubrimiento de la insulina para su tratamiento supuso uno de los mayores hitos en el campo de la medicina, transformando una enfermedad letal en una patología crónica.

Objetivos: el objetivo de este trabajo ha sido enumerar y describir las características de las insulinas investigadas y/o comercializadas durante los cincuenta primeros años tras su descubrimiento, marcando nuestro punto final en la aparición de la insulina humana sintética. También se han estudiado las indicaciones de las mismas en el campo de la medicina veterinaria y las aplicaciones que este fármaco ha tenido fuera de la diabetes.

Tipo de estudio: es una revisión descriptiva, del tipo de las sistemáticas exploratorias.

Material y métodos: tras la identificación de 2.478 artículos se cribaron 2.150 teniendo como criterio de inclusión el que su objeto de estudio fueran las características y aplicabilidad clínica de las distintas insulinas aparecidas en el primer medio siglo desde su descubrimiento. Finalmente se analizaron 336 publicaciones.

Resultados: en 1922, los canadienses Banting, Best, Collip y MacLeod comprobaron que la insulina regular amorfa funcionaba en el tratamiento de la diabetes. Ésta sería la base para el desarrollo de las siguientes insulinas hasta que, en 1936, se comercializara la insulina regular cristalina, descubierta en 1926. No aparecería ninguna otra insulina rápida hasta 1965 con Actrapid. Se probaron multitud de vías para su administración (oral, dérmica, inhalada...), llegando a la conclusión de que se debía usar únicamente la vía parenteral. En muy poco tiempo se puso en evidencia que el elevado número de inyecciones diarias necesarias para el control de la enfermedad era un obstáculo a superar. Se intentaron multitud de vías para prolongar el tiempo de acción de la insulina. Muchas fueron un estrepitoso fracaso, como la incorporación de vasoconstrictores o lípidos. Las que realmente tuvieron una repercusión fueron aquellas que la unieron a diversas proteínas o las que se incorporaron zinc en su composición. En 1936 apareció la primera insulina de acción prolongada con aplicación clínica. Era la insulina protamina. La necesidad de reconstituirla inmediatamente antes de su administración hizo que fuera desplazada rápidamente por la insulina protamina-zinc (PZI), comercializada en 1937, que venía premezclada en el vial. Ésta tenía una vida media mucho más larga (36 horas), lo que la hacía una verdadera insulina basal. Tanto es así que ha perdurado hasta nuestros días, eso sí, solo para uso veterinario. Le siguieron en

1942 la histona zinc insulina y, en 1944, la insulina globina zinc, aunque ambas tenían una duración intermedia. En 1950 aparece en el mercado la insulina protamina isofánica o insulina NPH. Tenía la gran cualidad de poderse mezclar con insulina rápida en la misma jeringuilla sin alterarse las características de ninguna de ellas, propiedad que no tenían las anteriores. Eso la ha hecho pervivir hasta la actualidad, aunque hoy en día es de origen humano. En 1952 apareció la insulina U-500. Su mayor concentración aumentaba su vida media, cualidad que emplean hoy en día algunos de los nuevos análogos de la insulina. La U-500, pero de origen humano, también sigue disponible actualmente. En 1953 se comercializó el grupo de las insulinas Lente, obtenidas a base de sucesivas cristalizaciones solo con zinc. No tenían proteínas añadidas por lo que daban menos problemas de alergias. Eran la Semilente, Lente y Ultralente, que cubrían el espectro de duración rápida, intermedia y larga respectivamente. Llegaron a suponer un tercio del mercado mundial. Se podían mezclar entre ellas pero no con la insulina regular. En 1973 aparecieron las insulinas ultrapurificadas y en 1979 se logró sintetizar la insulina humana. La consecuencia del cambio a este origen hizo que todas las insulinas existentes disminuyeran su tiempo de acción de una forma considerable, haciendo que muchas de ellas desaparecieran del mercado. La insulina tuvo otras indicaciones diferentes a la diabetes que han desaparecido. De especial mención es su uso en psiquiatría para inducir los comas hipoglucémicos para el tratamiento de la esquizofrenia.

En conclusión, el descubrimiento de la insulina fue el primer paso para el tratamiento real de la diabetes mellitus que, hasta ese momento, era una enfermedad letal. Sin embargo, comenzó también un largo camino para conseguir un preparado que permitiera el menor número de inyecciones diarias con un efecto terapéutico adecuado. La unión a proteínas, en especial a la protamina, el zinc y las cristalizaciones de la molécula lo consiguieron. No obstante, ni todas las insulinas valían para todos los pacientes, ni a todos los diabéticos les valían todas las insulinas. Finalmente, el viraje hacia la insulina humana sintética, con un tiempo de acción muy inferior, ha obligado a buscar nuevas opciones terapéuticas con unas características farmacocinéticas mejores. Lamentablemente no se ha estudiado, aún a día de hoy, el papel que podría seguir teniendo la insulina ovina o porcina purificada dentro del campo del tratamiento de la diabetes.

Palabras clave: Diabetes mellitus; insulina; insulina globina; insulina Lente; insulina NPH; Insulina protamina zinc.

2. ABSTRACT

Diabetes is a disease which has been with human beings throughout history. Even though centuries ago its prevalence was almost non-existent, it is practically an epidemic today. The discovery of insulin for its treatment was one of the greatest breakthroughs in the field of medicine, thus transforming a lethal disease into a chronic pathology.

Aims. The aim of this work is to list and describe the characteristics of insulins investigated and marketed over the first fifty years after their discovery, ending our study at the appearance of synthetic human insulin. The indications of these insulins in the field of veterinary medicine and their applications has had on other diseases have also been studied.

Type of study. This is a descriptive review of the type of exploratory systematics.

Material and methods. After the identification of 2,478 articles, 2,150 were discarded based on the inclusion criteria of this study which were the characteristics and clinical applicability of the different insulins which appeared in the first half century since their discovery. Finally, 336 publications were analysed.

Results. In 1922, Banting, Best, Collip and MacLeod from Canada showed that regular intake of amorphous insulin worked in the treatment of diabetes. This was to be the basis for the development of the insulins which followed until, in 1936, regular use of crystalline insulin, discovered in 1926, was commercialized. No other quick insulin was to appear until 1965 with Actrapid. Various routes were tested for its administration (oral, dermal, inhaled ...) and reaching the conclusion that it should only be used parenterally. Very shortly it became evident that the high number of daily injections necessary for the control of the disease was a hurdle to overcome. Many routes were tried to prolong the time of insulin action. Many were a complete failure, such as the incorporation of vasoconstrictors or lipids. Those that did have an impact were those that linked it to various proteins or those that included zinc in its composition. In 1936, the first long-acting insulin with clinical application appeared. This was protamine insulin. The need to reconstitute it immediately before its administration made it rapidly displaced by the protamina-zinc insulin (PZI) on the market in 1937, which came as pre-mixed in the vial. This had a much longer average life-span (36 hours), which made it a true basal insulin, which has lasted to the present day, but only for veterinary use. This was followed in 1942 by histone zinc insulin and, in 1944, globin zinc insulin, although both only had an intermediate duration in their functioning. In 1950, isophane protamine insulin (or NPH insulin) appeared on the market. It had the great quality of being able to mix with fast insulin in the same syringe without altering the characteristics

of any of them, a property which none of the previous ones had. This has made it last until today, although now it is of human origin. In 1952 the U-500 insulin appeared. Its greater concentration increased its average life-span, a quality used today by some of the new insulin analogues. The U-500, although of human origin, is still available nowadays. In 1953, the Lente insulin group was commercialized and was obtained on the basis of successive crystallisations only with zinc. This group did not have added proteins so they caused less allergy problems. They were the Semilente, Lens and Ultralente which covered the spectrum of fast, intermediate and long duration in their functioning, respectively. They now represent a third of the world market. They could be mixed together though not with regular insulin. In 1973 ultrapurified insulins appeared and in 1979 human insulin was synthesized. The consequence of the change to this origin entailed that all the existing insulins diminished their action time in a considerable way, thus causing many of them to disappear from the market. Insulin had other indications than diabetes that now have disappeared. It is important to point out its use in psychiatry to induce hypoglycemic comas for the treatment of schizophrenia.

To sum up. The discovery of insulin was the first step for the present-day treatment of diabetes mellitus which, until then, was a lethal disease. However, it was the beginning of a long way to achieving a preparation which would allow for the least number of daily injections with an adequate therapeutic effect. The binding to proteins, especially to protamine and the inclusion of zinc and the crystallizations of the molecule achieved this. However, not all insulins were valid for all patients or all diabetics could not use all the insulins. Finally, the shift towards synthetic human insulin, with a much shorter action time made us seek new therapeutic options with better pharmacokinetic characteristics. Unfortunately, the role that purified ovine or porcine insulin could have in the field of diabetes treatment has not yet been studied.

Keywords: Diabetes mellitus; insulin; globin insulin; Lente insulin; NPH insulin; zinc protamine insulin.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. LA DIABETES Y SU IMPORTANCIA

En el transcurso de la historia, la humanidad se ha tenido que enfrentar a guerras, conflictos, desastres naturales y, por supuesto, a la “enfermedad”, factor fundamental que ha influido de manera decisiva en el rumbo de nuestra especie desde su aparición en la tierra.

Cada época ha estado marcada por una serie de acontecimientos históricos que han decidido el desarrollo de la cultura, la filosofía, la ciencia y la política. No cabe la menor duda de que las enfermedades también han estado presentes en cada momento clave decidiendo, en muchas ocasiones, la dirección que nuestra sociedad ha tenido que tomar. Desde la lepra en el antiguo oriente de la época de Jesucristo, la peste en la Europa de la Edad Media, hasta llegar a la actualidad, donde las patologías vasculares y la diabetes son una auténtica pandemia en la mayor parte de las sociedades modernas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la diabetes y sus tipos como “una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia, o sea, el aumento del azúcar en la sangre. La diabetes de tipo 1 (DM1), anteriormente denominada diabetes insulino dependiente o juvenil, se caracteriza por la ausencia de la síntesis de insulina. La diabetes de tipo 2 (DM2), llamada anteriormente diabetes no insulino dependiente o del adulto, tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina, lo que a menudo es la consecuencia del exceso de peso o de la inactividad física. La diabetes gestacional corresponde a una hiperglucemia que se detecta por primera vez durante el embarazo” (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La diabetes ha formado siempre parte de nuestra sociedad. En el pasado era una enfermedad de origen desconocido que conducía irremediablemente al deterioro general y a la muerte de las personas que la padecían. Hoy en día nos encontramos con una investigación avanzada y un conocimiento relativamente profundo de esta patología, consecuencia directa de la preocupación de una sociedad ante una epidemia global que se expande de manera amenazante a medida que nuestra civilización progresa.

A partir de la Segunda Guerra Mundial la mortalidad por las enfermedades crónicas empezó a sobrepasar a la producida por las enfermedades infecciosas en los países desarrollados. Al intentar entender y controlar este nuevo tipo de problema de

salud los expertos se enfrentaron con unas circunstancias desconocidas que requerían unos nuevos planteamientos con respecto a su etiología. Universalmente se incorporó la noción de los factores de riesgo personales para una serie de enfermedades específicas, como la falta de ejercicio y la obesidad para la diabetes, y la de los factores ambientales, como la falta de agua potable para las infecciones intestinales (López Ramón y Ávalos García, 2013).

En los últimos 30 años el número de diabéticos se ha multiplicado por cuatro. Según la OMS, en 2014 había 422 millones de adultos que tenían diabetes frente a los 108 millones en 1980. Las cifras son apabullantes. En el mundo un 8,5 % de los adultos padece la enfermedad que produjo 1,5 millones de muertes directas en el 2012. A ellas hay que sumar otros 2,2 millones que se produjeron por el efecto indirecto de unos niveles excesivos de azúcar. El 43 % de estos 3,7 millones de fallecimientos fueron antes de cumplir los 70 años (Redacción BBC Mundo, 2016).

A mayores de lo que supone esta patología en vidas humanas hay que tener en cuenta los gastos que produce, tanto a nivel social como individual. En este aspecto es de destacar que, en España, los costes directos de la diabetes representan el 8,2% del gasto sanitario total, lo que supone un total de 5.809 millones de euros (Gaceta Médica, 2018). En Estados Unidos la American Diabetes Association (ADA) ha calculado que el gasto médico de la diabetes supuso 116.000 millones de dólares en el año 2007, coste que se elevó a 176.000 millones en el 2012 (American Diabetes Association, 2008 y 2013).

La insulina, que es el objeto de este trabajo, es el medicamento angular del tratamiento de la diabetes tipo 1 y un importante pilar de la tipo 2. Su desarrollo se fundamenta en una serie de bases históricas que culminaron con su descubrimiento. Se trata de una hormona que regula el azúcar en la sangre. Es vital para el ser humano dado que su ausencia provoca unos niveles de glucosa tóxicos para el organismo. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia, que con el tiempo daña gravemente a muchos órganos y sistemas, especialmente a los nervios y a los vasos sanguíneos (Organización Panamericana de la Salud, 2001).

3.2. DIABETES Y SOCIEDAD

Como curiosidad, que nos puede permitir tener una idea de cómo una enfermedad está presente en las sociedades humanas, es destacable las menciones a la misma que hay en varias obras tanto de la literatura universal como de la española.

Ya en el Decamerón, escrito por Giovanni Boccaccio entre 1351 y 1353, se describe el primer uso de un “biosensor” terriblemente rudimentario para el diagnóstico de la diabetes, relatando en uno de sus cuentos como “un médico chupa la orina de una hermosa joven”. La presencia de glucosa en la orina y, por lo tanto, el sabor dulce es una indicación de la dolencia (Mulet, 2013).

Entre los conquistadores de América, Cortázar cita algunos casos como el de Gonzalo Jiménez de Quesada (1509-1579), quien probablemente presentó una serie de complicaciones de su diabetes. Otro caso a destacar es el de Nicolás de Federman, quien a través de sus descendientes dejó auténticos vestigios de padecer la enfermedad. En los Santanderes y en el noreste de Boyacá, regiones de Colombia en las que habitan personas con rasgos teutones y nombres o apellidos de origen sajón, son las zonas con mayor incidencia de diabetes del país. Por otra parte también relata Cortázar que “existen relatos de soldados que, sin estar en campaña y en pleno descanso físico, morían de sed y en un sueño profundo, habiendo perdido la conciencia en forma progresiva”. Probablemente estos hombres, que eran jóvenes o adultos, presentaron una acidosis diabética” (Jácome Roca, 2004).

En España destaca la obra de Torcuato Luca de Tena “Los renglones torcidos de Dios”, publicado en 1979, donde se habla del coma inducido con insulina para tratar a los enfermos mentales en los manicomios de la época: “(...) llevarla al borde mismo de la muerte provocándole una hipoglucemia progresiva hasta que entre usted en coma. Cuando esté ya a las puertas de la agonía, la reviviremos suministrándole dosis masivas de glucosa. Y apenas esté usted repuesta repetiremos el tratamiento cuarenta o cincuenta veces (...) en tres o cuatro meses (p. 233)” (Huerta, 2017). De hecho, el choque insulínico formó parte del arsenal terapéutico de la psiquiatría desde los años treinta, siendo profusamente utilizado durante la década de los cuarenta. Posteriormente, a partir del influyente artículo de 1953 “The insulin myth” de Harold Bourne, y paralelamente a la introducción de los psicofármacos, su uso fue paulatinamente disminuyendo hasta desaparecer (Mitchell y Kirkby, 2014).

Aparte de la literatura, también la cultura popular ha integrado el empleo de plantas para intentar tratar la enfermedad. Desde la canela china, pasando por el frijol de racimo indio, la alholva usada por los aborígenes suramericanos, el ajo y la cebolla usados por largo tiempo en Europa, hasta el copalchi empleado en Cartagena de Indias. La más nombrada probablemente sea la Galega Officinalis o Lila Francesa, usada ya por los druidas galos. De ella se pudo aislar un alcaloide con efectos hipoglucemiantes, que hoy en día es la base del tratamiento de la diabetes tipo 2, la metformina (Jácome Roca, 2004).

3.3. HISTORIA DE LA DIABETES

Sin duda fue el descubrimiento de la insulina, como referente fundamental del tratamiento farmacológico y, posteriormente y hasta la actualidad, de otros grupos terapéuticos de gran eficacia y seguridad para cada tipo de diabetes y perfil del paciente, lo que ha determinado que esta enfermedad haya logrado en nuestros días al menos un control aceptable. No deja de ser sorprendente que el desarrollo y tratamiento de la diabetes, especialmente en lo que a la insulina se refiere, sea tan reciente. Si hacemos un repaso a la historia de la humanidad, desde la época de las civilizaciones más antiguas hasta la actualidad, apreciaremos la relación directa entre la diabetes, la evolución de sus tratamientos y el de nuestra propia civilización.

3.3.1. Antiguo Egipto

En el Egipto faraónico, desde el punto de vista paleopatológico, el conjunto de las enfermedades endocrinológicas presentan serias dificultades para su análisis. La mayoría de ellas no originan signos identificables mediante exploraciones radiológicas o microscópicas, técnicas habituales en esta ciencia. Para su estudio se necesitan técnicas moleculares específicas que aún no cuentan con un desarrollo aceptable (Hermosilla, 2013).

En cuanto a las fuentes escritas, el papiro de Ebers recoge algunos casos de diabetes y recomienda varios remedios. Para los especialistas son las primeras referencias históricas de la enfermedad. Al papiro se le data hacia el año 1550 antes de Cristo. Fue encontrado en 1862 por Edwin Smith en Tebas, hoy denominado Luxor, en Egipto (Turnes, 2007) (figura 1).

Es un documento de 20,23 m de largo por 30 cm de ancho atribuido a un eminente médico sacerdote del templo de Imhotep. En él se relata la existencia de *“enfermos que adelgazan, tienen hambre continuamente, orinan en abundancia y se sienten atormentados por una enorme sed”* (Christopoulou-Aletra y Papavramidou, 2008). Un auténtico tratado de medicina que, además, contenía la primera referencia que se dispone sobre un tratamiento. En concreto recomienda tomar *“un vaso medidor lleno de agua del estanque del pájaro, baya de saúco, fibras de la planta de asit, leche fresca, tragos de cerveza, flor del pepino y dátiles verdes”* (McClatchey, 2017).



Figura 1: Parte del Papiro de Ebers (imagen Creative Commons licenses).

3.2.2. La medicina Greco-Romana

Es curioso como se supone que no hay referencias a la diabetes en el corpus hipocrático de **Hipócrates de Cos** (460 a.C. a 370 a.C.) (figura 2). Sin embargo, si existen descripciones indirectas que pueden interpretarse como alusiones a esa enfermedad. Por ejemplo, en “Las Epidemias”, habla de una cantidad de orina que describe como grande y no proporcional a la cantidad de líquido que se bebe, que conlleva a una emaciación del cuerpo. Claramente podría estar describiendo la enfermedad (Gemmill, 1972).

Sobre el término diabetes, que significa “pasar a través de”, hay serias dudas de quien lo acuñó, adjudicándole tanto a **Apolonio de Memphis** (S III a.C.) como a **Demetrius de Apamaia** (S II a.C.) (Christopoulou-Aletra y Papavramidou, 2008). Evidentemente, fuera quien fuera, está claro que fue posterior a Hipócrates.

Aulo Cornelio Celso (25 a.C. a 50 d.C) (figura 2), nacido en la Galia Narbonense en la época de César Augusto, fue un enciclopedista romano y, muy probablemente, también médico, punto éste en el que no están de acuerdo todos los autores. En su obra “De Medicina”, la única conservada en la actualidad, hace una descripción de la poliuria y la polidipsia, anticipándose en la recomendación del ejercicio físico para tratar esta dolencia. En el capítulo donde se refiere a la diabetes dice: *“Pero cuando la orina excede en cantidad al líquido que se toma, incluso si se pasa sin dolor, da lugar a un desgaste y a un peligro del consumo del cuerpo, más si se es delgado. Hay necesidad de hacer ejercicio y frotarse, especialmente al sol y ante el fuego. El baño debe tomarse, aunque rara vez, y el paciente no debe permanecer en él por mucho tiempo; la comida debe ser astringente, el vino seco y sin diluir, frío en verano, tibio*

en invierno y en la cantidad el mínima requerida para calmar la sed. Los intestinos también deben ser movidos por un enema o tomando leche” (Christopoulou-Aletra y Papavramidou, 2008).

Posteriormente, en el siglo II de la era cristiana **Areteo de Capadocia** (81-138), médico griego residente en Roma que posiblemente estudió en Alejandría, señaló la fatal evolución y el desenlace de la enfermedad. Interpretó sus síntomas concluyendo que *“se les deshacía su cuerpo poco a poco y, dado que los productos de deshecho tenían que eliminarse disueltos en agua, necesitaban orinar mucho. Esta agua perdida tenía que ser respondida bebiendo mucho. Como la grasa se funde poco a poco se pierde peso y ya que los músculos también van deshaciéndose, el enfermo se queda finalmente sin fuerzas”* (Sánchez Rivero, 2007)

Por su parte **Claudio Galeno** (129-200 d.C.) (figura 2) pensaba que la diabetes era una enfermedad muy rara, utilizando términos alternativos como “diarrea urinosa” y “*dypsacus*”. Éste último término lo empleaba para enfatizar la sed extrema asociada a la enfermedad. En su obra “*De Locis Affectis*” (Sobre la Localización de las Enfermedades), en su libro VI, concretamente en el capítulo dedicado a los problemas renales, piedras, abscesos y úlceras dedica a esta patología el parágrafo 394 que titula “La diabetes: causas, síntomas y relación con otras afecciones”. En él dice: *“Hay otra afección de los riñones en la que se orina un tenue icor de sangre, semejante a los excrementos que aparecen al comienzo de las afecciones hepáticas, aunque este icor es un poco más sanguinolento. Esto sucede por una afección que se produce en los riñones parecida a eso que en el hígado se llama atonía, y por dilatación de las bocas, pasos, o como se les quiera llamar, que desde la vena cava filtran la orina en los riñones. Me parece que los riñones están también afectados en esa enfermedad que unos llaman hidropesía en orinal, otros diarrea de orina, otros diabetes y otros dypsacus. Es una enfermedad que se produce muy rara vez; yo, al menos, la he visto hasta ahora dos veces. Los afectados tenían una sed desmedida y por ello bebían abundantemente, orinando enseguida lo mismo que habían bebido. Esta afección de los riñones y vejiga es semejante a la lientería del vientre e intestinos”* (Turnes, 2007). Es curioso como, con tan sólo la experiencia de haber atendido a dos pacientes, Galeno le atribuye un origen renal a la diabetes que persistirá durante siglos. No debemos de olvidar que estamos ante uno de los padres de la medicina y que para refutar sus teorías hacía falta tener pruebas fehacientes, a la par de un gran prestigio, prestigio que se podía perder por dicha acción.



Figura 2: Los “padres” de la medicina occidental. De izquierda a derecha Hipócrates, Celso y Galeno (imágenes Creative Commons licenses).

3.3.3. India

Siglos después, los médicos indúes llamaron a la diabetes *madhumeha* ("miel de la orina") porque su sabor dulce atraía tanto a las hormigas como a otros animales. Tanto el antiguo médico indio **Sushruta** (siglo III o IV d.C.) en su libro Ayurveda Sushruta (Veda significa ciencia) como el cirujano **Charaka** (siglo V o VI d.C.) ya pudieron identificar dos tipos de diabetes, que luego se denominaron tipo 1 y tipo 2. En concreto, de la diabetes tipo 2 Sushruta hace, por primera vez, una descripción impecable: *“es una extraña enfermedad, propia de las personas pudientes, de obesos que comen mucho dulce y arroz, cuya característica más peculiar es que su orina tiene olor dulce”*. Además, ambos observan que la enfermedad habitualmente afectaba a varios miembros dentro de una misma familia, una característica hoy ampliamente demostrada (Lakhtakia, 2013). Finalmente añadir que no sólo se quedan en el diagnóstico, si no que recomiendan el ejercicio físico como la base para su tratamiento (Dwivedi y Dwivedi, 2007).

3.3.3. Bizancio

La medicina de esta época no aportó nada nuevo al conocimiento de la diabetes. **Aecio de Amida** (500-570) en el 547 menciona en su obra esta enfermedad y que, como Galeno, atribuye a un origen renal. Se caracterizaba por un hambre insaciable. Recomendaba para su tratamiento una sangría general, el empleo de eméticos e

introducir al enfermo en un tonel caliente con la cabeza fría. Debían comer cerdo, huevos, leche y vino. **Alejandro De Tralles** (525-605), que publicó un tratado de medicina que se publicó hasta el Renacimiento, a su vez recomendaba comidas y alimentos muy dispares, como la achicoria y la lechuga, el pescado y la carne (particularmente pezuña y hocico de buey) y prohibía o desaconsejaba los alimentos salados y agrios. Por lo menos recomendaba que las bebidas debían tomarse en gran cantidad con lo que, al menos, no les hacía padecer una sed contumaz. Por su parte **Pablo de Eguina** (625-690), al que se le considera el padre de la cirugía occidental, publicó un compendio de medicina en el año 670, que se publicó hasta el siglo XIX en el que se tradujo al inglés. En él recomendaba una dieta a base de alimentos muy nutritivos, como la mermelada de miel de membrillo, el melón, el vino rosado o la infusión de cebada. También indicó las sangrías al principio y los eméticos o las sudoraciones en tonel (Álvarez Torices, 2017).

3.3.4. China

En el siglo VII **Sun Si-Miao** (590-682) ya hizo algunas descripciones sobre la diabetes y la atribuyó a alteraciones en la alimentación (Xiao-Li y Stimson, 2014). En la medicina tradicional china a la diabetes se la conoce como “*xiao ke*” o síndrome de desgaste de sed. Se entiende que las personas que consumen alcohol, dulces, alimentos grasos y llevan un estilo de vida sedentario tienden a producirla. Las alteraciones emocionales también consideraban que podían contribuir a su desarrollo. La deficiencia del Yin que se produce puede caracterizarse por un letargo, la debilidad y una complexión pálida (Ho y Robertson, 2018).

3.3.5. Medicina árabe

En Persia el médico y filósofo **Shaikh-UI-Rais Bu Ali Ibne Sina**, conocido en occidente como **Avicena** (960-1037), proporcionó una descripción detallada de la diabetes mellitus en su “Canon de Medicina”. Describía el apetito anormal y el colapso de las funciones sexuales. Además, a mayores, describía el sabor dulce de la orina diabética. Al igual que antes hizo Areteo reconoció una diabetes primaria y otra secundaria. También describió la gangrena diabética. Recomendaba que el tratamiento se hiciera con una mezcla de lupino, trigonella (alholva) y la semilla cedoaria, que produce una considerable reducción en la excreción de azúcar, un tratamiento que todavía se emplea en la actualidad dentro de la medicina popular.

Por su parte **Musa Bin Maimoon** o **Maimónides** (1135 a 1204), médico nacido en Córdoba, afirmó haber visto más de 20 casos, proponiendo que la diabetes era causada por el agua dulce del río Nilo y que, con el calor, se disemina por los riñones (Ali *et al.*, 2006).

3.3.6. Edad Media en Europa

La Edad Media fue en periodo oscuro en el campo de la diabetes. Tan sólo es de destacar que en el siglo XIII el médico apellidado **Feliche** (se desconoce su nombre), realizando disecciones, se dio cuenta de que el páncreas no era un simple trozo de carne (etimológicamente la palabra viene del griego *pan*=todo; *kreas*=carne), como hasta entonces se había supuesto, sino que era una víscera con una función distinta a la contracción muscular (Giráldez Dávila, 2008).

3.3.7. Desde la Edad Moderna hasta 1889

Hubo que esperar a 1537 para que el suizo **Theophrastus Bombastus von Hohenheim**, más conocido como **Paracelso** (1493-1541), defendiera el carácter sistémico de la diabetes, afirmando que el riñón era inocente, yendo en contra de la teoría mayoritariamente aceptada que había propuesto Galeno. Su experimento consistió en colocar la orina de un enfermo en un recipiente que puso a hervir a fuego lento. Pudo comprobar cómo, tras pasar por la consistencia de un jarabe, dejaba un polvo blanco en el recipiente, una vez terminada la evaporación. Curiosamente no supo nunca que era azúcar, pues no lo probó, hecho que le hubiera revelado su sabor. Creyó que era sal, justificando así la sed y la abundante orina del enfermo. Defendía que no se originaba en el riñón, sino que éste simplemente lo filtraba (Chiquete *et al.*, 2001).

Posteriormente, en 1674, **Thomas Willis** (Reino Unido, 1621-1675) describió que la orina era *“como si estuviera impregnada de miel o de azúcar”*, describiendo uno de los signos considerado patognomónico de la diabetes durante años, la glucosuria. Además etiqueta claramente a la diabetes como una enfermedad de la sangre y no de los riñones y separa dos tipos, la mellitus y la insípida. No debemos de olvidar que por aquel entonces el sentido del gusto era imprescindible en los médicos. Tal fue la profundidad del estudio que hizo de la diabetes que se la llamó durante muchos años *“la enfermedad de Willis”* (Eknoyan y Nagy, 2005). Unos años después, **Thomas Sydenham** (1624-1689), el llamado Hipócrates inglés, apoyó la idea de un

origen extrarrenal, otorgándole igualmente una causalidad sistémica que se iniciaba por una digestión defectuosa, que hacía que parte del alimento tuviera que ser excretado en la orina (Kraft, 2008). Finalmente, en 1776, **Matthew Dobson** (Reino Unido, 1735-1784) comprobó químicamente que la orina de los diabéticos contenía azúcar. También observó, por primera vez, que ésta estaba en la sangre de los diabéticos. Luego no era una enfermedad renal (Kraft, 2008). Más adelante, en 1815, el químico francés **Michel Eugène Chevreul** (1786-1889) identificó el azúcar que había reconocido Dobson en la orina concretamente como glucosa (Tattersall, 2010). Por su parte, **Claude Bernard** (Francia, 1813-1878) determinó en 1859 que la glucosa estaba también presente en la sangre en los sujetos normales (Tattersall, 2010). Por fin, ya en la mitad del siglo XIX, hay bases realmente científicas para enfocar el conocimiento de la diabetes y, por ende, llegar a un tratamiento efectivo de la misma.

Ya en 1683, **Joham Conrad Von Brunner** (Suiza, 1653-1727) realizó, en un perro, la primera pancreatometría de la que tenemos constancia. Observó que después de llevarla a cabo el pobre animal manifestaba un apetito y una sed insaciables. Lamentablemente era anatomista y no relacionó estos síntomas con la diabetes (Dukan y Milne, 2011). Fue el británico **Thomas Cawley** (¿?) quien, en 1788, describió en una autopsia la litiasis pancreática como causa de diabetes, siendo ésta la primera referencia fundamentada que relaciona la diabetes y el páncreas (Stylianou y Kelnar, 2009).

Posteriormente, en 1869, el alemán **Paul Langerhans** (1847-1888) describió en su tesis doctoral los islotes pancreáticos que posteriormente recibieron su apellido (Jolles, 2002). Desconocía su función pero, al menos, sabía que no producían fermentos. Once años después, en 1880, **Étienne Lancereaux** (Francia, 1829-1910) comprobó definitivamente el origen pancreático de la diabetes. La describió como un síndrome, compuesto por la "*Diabète maigre*" y la "*Diabète gras*", refiriendo un mayor daño pancreático en la primera (Tattersall, 2010). Fue el primero que en occidente hizo esta clasificación de la diabetes, pues no debemos olvidar que la medicina hindú ya la conocía más de mil años antes. Sin embargo, no se generalizó su empleo entre los médicos hasta los años treinta del siglo XX como resultado de los trabajos de Sir **Harold Percival Himsworth** (1905-1993) (Himsworth, 1939).

Más tarde, el también francés **Edouard Laguesse** (1861-1927), en 1893, sugirió que los racimos de células, que él había llamado "islotes de Langerhans", constituían la parte endocrina del páncreas. No estaban implicadas en la secreción de jugos gástricos y debían de producir una presunta sustancia que influía en el metabolismo

de los carbohidratos (Fossati, 2004). Fue en 1901 cuando el estadounidense **Eugène Lindsay Opie** (1873-1971) unió definitivamente la diabetes con los islotes de Langerhans al demostrar que la diabetes se produce por una destrucción de los mismos consecuente a una insulinitis (Kidd, 1971). En 1907 sus compatriotas **M.A. Lane** (¿?) y **Robert Bensley** (1867-1956) diferenciaron las células alfa y beta, intuyendo que el páncreas estaba relacionado con la producción de varias sustancias con acción endocrina (Tattersall, 2010). En 1909 el belga **Jean de Meyer** (1878-1934) denominó “insulina” a la sustancia procedente de los islotes dado que, en latín, islote se dice “*insula*” (Rosenfeld, 2010). Según él debía poseer, hipotéticamente, una actividad hipoglucemiante.

Pero, según los principios de la ciencia, establecidos por **René Descartes** en el siglo XVII, a una teoría observada hay que aplicarla un experimento que la corrobore. Eso realmente lo hicieron, ya en 1889, el lituano **Oskar Minkowski** (1858-1931) y el alemán **Josef Von Mering** (1849-1908). Consiguieron producir una diabetes experimental en varios perros mediante la pancreatectomía total. Dedujeron que el páncreas era capaz de producir una sustancia cuya carencia era la responsable de la diabetes mellitus (Karamanou *et al.*, 2016). Con ellos comenzó realmente la historia de la insulina, pues dieron el primer paso que puso al resto de los investigadores a la búsqueda de ese producto pancreático capaz de modular el metabolismo de los carbohidratos.

3.4. LA INSULINA

El camino hasta nuestros días en el campo de la aplicación clínica de esta hormona abarca ya casi 100 años de historia. Hoy sabemos que se secreta en forma de proinsulina unida al péptido C (figura 3) (Polonsky, 2012). Pero ha habido una larga trayectoria de investigación hasta llegar hasta donde estamos. En 1953 **Frederick Sanger** (Reino Unido, 1918-2013) describió la estructura primaria de la molécula bovina, recibiendo por ello el Premio Nobel de 1958 en Química (Rosenfeld, 2002). Más tarde, **Dorothy Hodgkin** (Imperio británico, 1910-1994) describió la estructura tridimensional. Recibió el Premio Nobel de Química del año 1964 por el desarrollo de la técnica del estudio de las sustancias por medio de rayos X describiendo, entre otras, la molécula de insulina en su discurso para la Academia Sueca (Hodgkin, 1964). Acabaría sus estudios sobre ella en 1969 (Zajac *et al.*, 2010). Necesitó trasladarse a Estados Unidos para disponer de los nuevos grandes ordenadores y de las personas que supieran programarlos para ello (Muñoz Páez y Garritz, 2013). Luego vendrían las insulinas humanas.

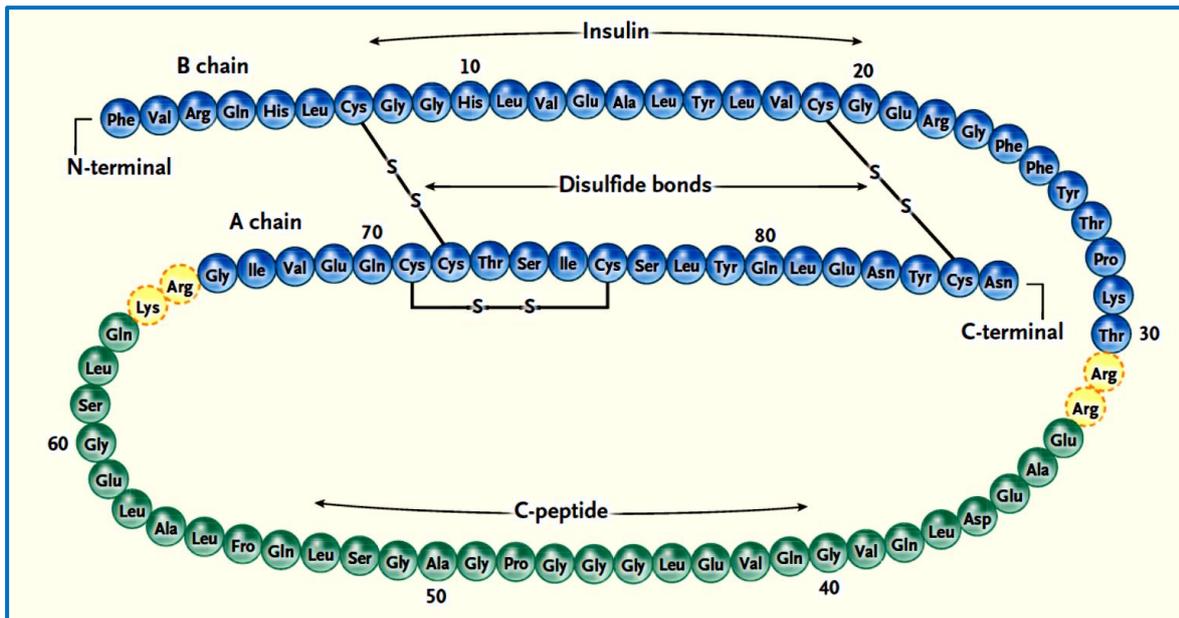


Figura 3: Estructura de la proinsulina (Polonsky, 2012).

La vida de una persona a la que se le diagnosticaba una diabetes mellitus, antes de que el equipo canadiense de formado por los doctores **Banting, Best, Collip y Macleod** desarrollaran la insulina amorfa para su tratamiento, era difícil y corta. Baste la descripción de estos tres casos típicos, descritos en la literatura, casos de los que prácticamente cualquier persona que viviera antes de 1922 había conocido entre algún allegado o persona próxima, viviera donde viviera (Allan, 1972):

Caso 1. Un varón de alrededor de cincuenta años. Comienza a tener un dolor severo en uno de los dedos de los pies. Le produce un sufrimiento constante que no le deja conciliar el sueño. Poco después el dedo comienza a ponerse negro. Su médico de cabecera confirma tanto la gangrena como el diagnóstico de diabetes. El paciente ya se temía el problema con el azúcar. Un hermano y varios miembros de su familia habían sido diabéticos. Consulta con un cirujano con la esperanza de que el dedo gangrenoso pudiera ser amputado. Éste descarta la intervención. Con la diabetes no se produciría la curación de la zona afectada. El hombre estuvo postrado en la cama durante meses. La gangrena se extendió hasta todo su pie. Finalmente la muerte vino a poner fin a su sufrimiento.

Caso 2: Una muchacha en los años dorados de la vida, rondando la treintena. La tos la acompaña desde hace unos meses. Un día el pañuelo con el que se tapó la boca al toser aparece teñido de un color que no deja lugar a dudas. La sangre inundaba el esputo. El diagnóstico es una tuberculosis. Pero no va sola. La sed y la poliuria que

la acompañaban eran los signos de una diabetes. En pocos meses murió de la llamada consunción galopante, un estado de caquexia extrema.

Caso 3: Jovencita aún no entrada en la adolescencia. El cuadro que presenta y las pruebas realizadas confirman una diabetes en su etapa temprana. La tratan con la dieta de hambre de Allen, entonces en boga. Introducida por el Dr. Frederick M. Allen, y promovida por el Dr. Elliott P. Joslin, la restricción dietética de grado extremo era entonces la principal esperanza para los diabéticos juveniles. Los resultados para esta niña, al principio, parecieron exitosos. Mejoraban los síntomas pero a cambio su cuerpo se iba consumiendo, siendo prácticamente piel y huesos. Incluso a veces tenía que tomar derivados del opio para calmar sus dolores abdominales debidos al hambre. Pese a todo en unos meses y de forma repentina apareció el coma diabético. Con él se acabó su calvario para siempre.

La insulina vino a poner fin a todo este sufrimiento (figura 4). Fue uno de los primeros “fármacos maravilla” del siglo XX que transformó una situación letal en un problema crónico (Feudtner, 2003). Antes de ella, el infausto pronóstico de los diabéticos no había tenido ninguna mejoría en los últimos 75 años (Fitz y Joslin, 1898) y los tratamientos no pasaban de las dietas, el reposo relativo, el opio y el bicloruro de mercurio (Allan, 1953).

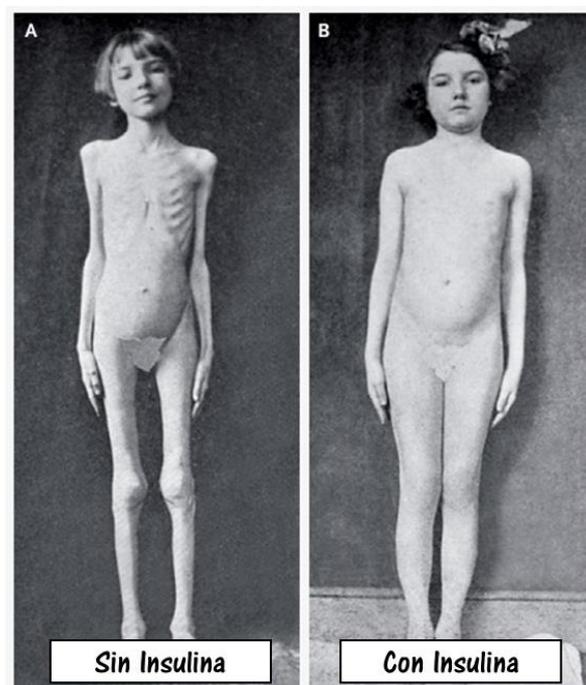


Figura 4: La misma niña, portadora de una diabetes, antes y después del tratamiento con insulina (Geyelin *et al.*, 1922).

Nosotros vamos a intentar desenmarañar el largo camino que se inicia con el descubrimiento de la insulina amorfa, porcina o bovina, hasta el desarrollo de la insulina humana. Un camino que pasó desde la euforia inicial de la idea de la curación de la diabetes al sosiego que supone asumir la cronicidad de la enfermedad y que, como todo en esta vida, pasó por distintos altibajos. Fluctuaciones que fueron desde el desencanto que suponía la necesidad de numerosos pinchazos a la alegría de lograr insulinas de efecto largo, que siempre eran seguidas de nuevas limitaciones para según qué paciente y qué diabetes. Limitaciones que, a día de hoy, hemos asumido y trabajamos desde su existencia.

4. OBJETIVOS

A continuación se enumeran los objetivos que nos hemos propuesto conseguir con esta revisión sistemática sobre los primeros diez lustros de la historia de la insulina, hormona indispensable para la vida tanto humana como de otras especies animales, cuyo descubrimiento y obtención para su aplicación en la clínica supuso uno de los mayores hitos en el campo de la medicina.

1. Enumerar las insulinas investigadas y/o comercializadas durante los cincuenta primeros años tras su descubrimiento. El punto que marca el final de esta revisión es el desarrollo de la insulina humana biosintética, en 1978. Por lo tanto, trabajamos con lo que se podía considerar como análogos de insulina no sintéticos, de origen animal, empleados en la diabetes con anterioridad a esa fecha.
2. Describir las características de las mismas, las indicaciones que tuvieron y los inconvenientes que se les detectaron.
3. Pormenorizar las vías en las que se trabajó, tanto para prolongar su vida media, con lo que serían menos el número de inyecciones diarias necesarias para el paciente, como para disminuir el intervalo para su pico de acción, con lo que su efecto sería más rápido en el tratamiento de las complicaciones agudas.
4. Esbozar las causas que llevaron a su posterior desaparición dentro del arsenal terapéutico de la diabetes.
5. Reflejar el uso que las distintas insulinas han tenido en el campo de la veterinaria.
6. Por último, se realiza una búsqueda de otras indicaciones de la insulina, fuera de la diabetes mellitus, con el fin de plasmar cómo, en ocasiones, fármacos que demuestran una gran utilidad en su campo se les supone polivalentes dentro de la homeostasis corporal.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio consiste en una revisión sistemática de las diferentes insulinas desarrolladas en los primeros 50 años desde su descubrimiento. En concreto desde 1922 hasta finales de los años 70 del siglo XX, momento en el que los laboratorios Genentech logran sintetizar la insulina humana (Borgoño and Zinman, 2012). De todas ellas ya no queda ninguna en el mercado humano al no estar comercializadas en Occidente insulinas de origen porcino o bovino para tal fin (Gualandi-Signorini y Giorgi, 2001). Sólo dos de ellas están autorizadas pero para su empleo en el campo de la veterinaria.

Dado que la finalidad de nuestro trabajo es principalmente descriptiva, sobre unos fármacos y unas indicaciones ya extintas, y partiendo de la premisa que el primer ensayo clínico no fue realizado hasta 1948 (López Arrieta y Qizilbash, 1996), no se realizará ningún metaanálisis posterior, pues de muchas de las insulinas estudiadas no se dispone de ninguna investigación con dicha metodología, siendo imposible la comparación cuantitativa entre ellas.

Las revisiones sistemáticas son un tipo de investigación científica que tiene como propósito integrar, de forma objetiva y sistemática, los resultados de los estudios sobre un determinado problema de investigación, con el objeto de determinar el “estado del arte” en ese campo del saber (Sánchez Meca, 2010). Por ello, se basan en la aplicación de una serie de estrategias que limitan la comisión de sesgos al integrar, analizar críticamente y sintetizar todos los trabajos relevantes sobre un tópico (Last, 2001).

Su metodología se basa en realizar una revisión de la literatura científica sobre una idea. Se parte de una pregunta formulada de forma clara y objetiva. Posteriormente, se utilizan métodos sistemáticos y explícitos para localizar, seleccionar y valorar críticamente las investigaciones relevantes a dicha pregunta. Junto a ello, se aplican una serie de protocolos para la recogida de los datos y de la información de dichas investigaciones, con la finalidad de alcanzar una serie de conclusiones válidas y objetivas sobre qué es lo que dicen las evidencias sobre dicho tópico (Sánchez Meca, 2010).

Las revisiones sistemáticas son, en resumen, aquellos estudios cuya población procede de artículos de la casuística ya publicados. Es decir, se trata de un estudio de estudios. Se utilizan una serie de estrategias que limitan los sesgos y los errores aleatorios. Estas se resumen en la búsqueda exhaustiva de todos los artículos relevantes, en unos criterios reproducibles y explícitos de selección, en la valoración del diseño y de las características de los estudios y en una síntesis e interpretación de los resultados (Manterola *et al.*, 2013).

Las revisiones sistemáticas y los metaanálisis, si se utilizan correctamente, constituyen la mejor herramienta posible para combinar los resultados de diferentes estudios en presencia de una información desbordante. No obstante, dado que son estudios retrospectivos de investigación pueden llevarnos a conclusiones sesgadas a partir de estudios imperfectos que, aisladamente, no habrían sido capaces de confundirnos, evento que hay que intentar evitar (Beltrán, 2005).

En julio de 2009 se publicó la declaración PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*) (Liberati *et al.*, 2009). Posteriormente ha tenido una actualización en 2015 (Shamseer *et al.*, 2015). Los autores de PRISMA identifican 4 aspectos conceptuales, novedosos en su momento de publicación, que conllevan la adición de nuevos ítems a la lista de comprobación de los trabajos examinados en una revisión sistemática (Urrutia y Bonfill, 2010):

1. El carácter iterativo del proceso de desarrollo de una revisión sistemática. La conducción de una revisión sistemática es un proceso complejo que implica numerosos juicios y decisiones por parte de los autores. El conocimiento de los autores sobre el tema influye en la pregunta a estudiar. La existencia de un protocolo no excluye que pueda haber razones justificadas para modificarlo, garantizando que, al hacerlo, no modifiquemos los resultados.
2. La conducción y la publicación de un estudio de investigación son conceptos distintos pero, en una revisión sistemática, están muy entrelazados.
3. La evaluación del riesgo de sesgo al nivel de los estudios o de los resultados. Se descarta el término “calidad” pues no implica la ausencia de sesgo.
4. La importancia de los sesgos relacionados con la publicación. Las revisiones sistemáticas deben tratar de incorporar la información de todos los estudios que sean relevantes para el tema de la revisión, estén o no publicados.

Existen varias clasificaciones referidas a los trabajos de revisión. Clásicamente se habla de cuatro **tipos de revisión** (Day, 2005):

1. *La revisión exhaustiva de todo lo publicado.* Se trata de un artículo de bibliografía comentada. Son trabajos bastante largos, muy especializados y no ofrecen una información precisa a un profesional interesado en responder a una pregunta específica.

2. *La revisión descriptiva.* Proporciona al lector una puesta al día sobre los conceptos útiles en unas áreas en constante evolución. Este tipo de revisiones tienen una gran utilidad en la enseñanza. También interesará a muchas personas de campos afines, pues leer buenas revisiones es la mejor forma de estar al día en las áreas generales de interés.
3. *La revisión evaluativa.* Responde a una pregunta específica, muy concreta, sobre los aspectos etiológicos, diagnósticos, clínicos o terapéuticos. Este tipo de revisiones son las que actualmente se conocen como preguntas clínicas basadas en la evidencia científica.
4. *Los casos clínicos combinados con una revisión bibliográfica.*

No obstante, otros autores prefieren realizar su **clasificación** en los siguientes tipos (Manchado Garabito *et al.*, 2009):

1. *Revisión sistemática:* son trabajos que resumen, de forma sistemática, la evidencia científica para estudiar una relación existente en el ámbito de la salud, contestando a una pregunta concreta.
2. *Meta-análisis:* técnica de síntesis cuantitativa de los resultados de las investigaciones primarias. Su objeto es proporcionar unas estimaciones más precisas que las que se desprenden de los estudios aislados incluidos en la revisión. Se trataría del análisis estadístico de una gran colección de resultados de unos trabajos individuales con el propósito de integrar los hallazgos obtenidos.
3. *Revisión Sistemática Exploratoria:* es la síntesis de la evidencia sobre un tema relacionado con la salud que describe el conocimiento existente sobre el mismo. Sirven para generar las hipótesis, establecer las líneas de investigación o como base para la elaboración de los informes técnicos.
4. *Informe técnico:* es un documento elaborado por expertos que seleccionan, según su criterio, la evidencia que responde a una pregunta determinada sobre un problema de la salud. Suelen ser estudios basados habitualmente en revisiones sistemáticas (con o sin meta-análisis), otros informes técnicos, juicios de expertos u otros recursos de información.

Por lo tanto, y atendiendo a la anterior clasificación, ***el presente trabajo se encuadraría como una revisión descriptiva, del tipo de las sistemáticas exploratorias.***

Higgins y Green (2008) identifican los siguientes aspectos que nunca deberían de faltar en la valoración de la calidad metodológica de los estudios evaluados:

1. *Sesgos de selección*: son las diferencias sistemáticas en la composición inicial de los grupos, que pueden comprometer la validez interna del diseño.
2. *Sesgos de ejecución*: Comprenden las diferencias sistemáticas en los cuidados proporcionados a los grupos de las diferentes intervenciones objeto de estudio.
3. *Sesgos por mortalidad diferencial*: Son las diferencias sistemáticas en las características de los participantes que abandonan los diferentes grupos de tratamiento.
4. *Sesgos de detección*: Incluye las diferencias sistemáticas en la evaluación de las variables de resultado.

Las revisiones sistemáticas pretenden ser (Gisberta y Bonfill, 2004):

1. *Rigurosas* en cuanto a los estudios incluidos (con criterios de calidad, etc.).
2. *Informativas*, esto es, enfocadas hacia los problemas reales, tratando de contestar a una pregunta claramente delimitada o específica e, idealmente, analizando y presentando los datos de la forma que mejor ayude a la toma de decisiones.
3. *Exhaustivas*: su objetivo es identificar y utilizar la mayor cantidad posible de la información pertinente, sin introducir sesgos (de publicación, de selección, etc.).
4. *Explícitas*, ya que todos los métodos utilizados en la revisión deben describirse con suficiente detalle.

Para efectuar las revisiones de orden clínico es conveniente seguir la metodología propuesta ya en 1994 por Sackett *et al.*:

1. Hay que establecer claramente el o los interrogantes. Se debe responder a los siguientes interrogantes:
 - a. *¿Qué está siendo revisado?* Tratamiento, diagnóstico, pronóstico, causalidad, calidad de la atención, análisis económico, etc. En nuestro caso buscamos todas las insulinas y sus derivados de los primeros 50

años de su existencia para así poder valorar las distintas vías que se emplearon para modificar su absorción. También se buscan otras indicaciones de la insulino terapia, hoy ya obsoletas o denostadas.

- b. *¿En quiénes?* Determinar la población clínica de interés. Es evidente que en nuestro caso se trabaja, fundamentalmente, con las viejas insulinas de origen porcino y bovino.
 - c. *¿Para qué?* En nuestro caso queremos indagar si realmente aquellas insulinas eran realmente inferiores a las disponibles actualmente en el control de la diabetes pues se han relegado al desuso.
2. Los métodos de investigación utilizados para localizar los estudios relevantes deber de ser exhaustivos. Cuanto más exhaustiva sea la estrategia de búsqueda, mayor probabilidad se tiene de hallar todos los artículos importantes sobre el tema, debiendo explicitar en el trabajo las estrategias de investigación utilizadas. Idealmente se debería utilizar:
- a. Una o más bases de datos bibliográficas, incluyendo qué palabras claves se utilizaron y cómo.
 - b. Una investigación de las referencias de todas las publicaciones relevantes sobre el tema.
 - c. Comunicación personal con los investigadores o las organizaciones en el área de conocimiento, especialmente para asegurar que no se han omitido aquellos trabajos publicados o las comunicaciones no publicadas importantes.
3. Explicitar los métodos utilizados para determinar qué artículos serán incluidos en la revisión. Idealmente se informará sobre el tipo específico de paciente, los resultados clínicos específicos, los procedimientos particulares, las pruebas, las exposiciones o los factores pronósticos más los elementos claves del diseño del estudio que identifican los "filtros de calidad" sobre la admisibilidad de la evidencia.
4. Evaluar la calidad metodológica de los estudios primarios. ¿Los estudios individuales cumplieron con los criterios científicos mínimos que permitirían extraer una inferencia fuerte a partir de sus resultados? ¿Pueden explicarse las diferencias importantes en las conclusiones del estudio por las diferencias en su calidad metodológica? Si es así, la verdad más probable se apoya en las

conclusiones extraídas a partir de los estudios de una mayor calidad metodológica.

5. Seleccionar y evaluar los estudios primarios de una forma reproducible y libre de sesgo. Explicitar los criterios para la inclusión y la evaluación de los estudios primarios. Lo ideal sería que la metodología y los resultados de los trabajos primarios sean evaluados, por lo menos, por dos revisores, ciegos mutuamente a las decisiones del otro y midiendo la magnitud de su coincidencia (medición estadística tales como coeficiente de correlación o coeficiente estadístico de kappa).
6. Explicar adecuadamente las diferencias en los resultados de los estudios primarios. Las buenas revisiones confrontan estas diferencias y tratan de explicarlas. Las diferencias pueden surgir básicamente de cinco fuentes:
 - a. Diferentes clases de pacientes (diferentes estadios o gravedad de la enfermedad, enfermedades asociadas, pronóstico o respuesta al tratamiento).
 - b. Diferentes exposiciones, manera de realizar las pruebas diagnósticas o de aplicar los tratamientos.
 - c. Diferentes resultados (definidos y medidos de diferentes maneras).
 - d. Diferentes métodos de estudio (con diferente rigor y poder).
 - e. El papel del azar.
7. Combinar apropiadamente los resultados de los estudios primarios. La combinación de los resultados debe arrojar unas conclusiones fundamentales y para ello debe responder a dos preguntas: ¿Existe algo que sirva realmente? y si es así, ¿para cuánto sirve? Se debe evaluar si las diferencias en los resultados son estadísticamente o clínicamente significativas. El método estadístico para combinar los resultados de varios estudios clínicos randomizados a doble ciego se llama, como ya hemos mencionado, metaanálisis. Éste, por las conclusiones que arroja, independientemente de los resultados de los estudios primarios, es a su vez considerado como un estudio primario u original. Hoy por hoy, en medicina, los metaanálisis de estudios primarios de gran tamaño son considerados como el grado más alto de la evidencia.

8. Sustentar las conclusiones en los datos citados. Se deben detallar los resultados de los estudios primarios para qué, de esa manera, se fundamenten las conclusiones.

Una vez planteados los objetivos, el siguiente paso consiste en localizar los estudios que hayan abordado la pregunta objeto de investigación. Esta fase pasa necesariamente por la definición de los **criterios de inclusión y exclusión** de los estudios, que nos van a permitir delimitar los trabajos a valorar, pues debemos tener en cuenta que se han realizado miles de ensayos clínicos (López Arrieta y Qizilbash, 1996). Estos criterios dependen del objetivo, pero nunca pueden faltar los siguientes (Sánchez Meca, 2010):

- a) Identificar los diseños de los estudios admisibles
- b) Definir los tipos de programas, tratamientos o intervenciones que se pretenden investigar.
- c) Definir las características de los participantes en los estudios.
- d) Determinar los datos estadísticos que deben aportar los estudios para poder calcular los tamaños del efecto.
- e) Identificar cómo han de venir medidas las variables de resultado.
- f) El idioma en el que tiene que estar escrito el estudio.
- g) El rango temporal que se pretende examinar.

En nuestro estudio las **fuentes formales** consultadas han sido las siguientes bases de datos de referencias bibliográficas de las revistas primarias (Bojo Canales *et al.*, 2004; Ferreira González *et al.*, 2011):

- 1) **PUBMED/MEDLINE:** es de acceso gratuito y utiliza fundamentalmente como idioma el inglés. MEDLINE es una base de datos bibliográfica producida por la National Library of Medicine (Biblioteca Nacional de Medicina) de los Estados Unidos, que recopila más de 27 millones de referencias bibliográficas. Aunque su andadura comenzó el 1 de enero de 1996, incorpora artículos desde 1809 al haber añadido tanto el antiguo "Index Medicus" como las referencias de algunas revistas antes de indexarlas tanto en el Index Medicus como en MEDLINE, como por ejemplo Science, British Medical Journal... Es un sistema de recuperación de la información basado en la tecnología World Wide Web, que permite el acceso al texto completo de algunos de los artículos publicados.

2) **SCIELO** (Scientific Electronic Library Online o Biblioteca Científica Electrónica en Línea): también de acceso gratuito. Utiliza como idioma el español, el inglés y el portugués. Es una biblioteca virtual formada por una colección de revistas científicas españolas de ciencias de la salud, seleccionadas de acuerdo a unos criterios de calidad preestablecidos.

3) **LILACS** (Literatura latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud): igualmente de acceso gratuito. Usa como idiomas el español, el inglés y el portugués. Es una base de datos cooperativa de la red BVS (Biblioteca Virtual en Salud) que comprende la literatura relativa a las ciencias de la salud, publicada en los países de Latinoamérica y el Caribe a partir de 1982.

4) **CUIDEN**: es la base de datos de la Fundación Index, que contiene la producción científica de los cuidados de salud en el espacio científico iberoamericano. Es una versión de acceso libre. Utiliza como idioma el español. Contiene artículos de revistas científicas, libros, monografías y otros documentos, incluso materiales no publicados, cuyos contenidos han sido evaluados previamente por un comité de expertos.

5) **GOOGLE ACADÉMICO o GOOGLE SCHOLAR**: es un buscador de google especializado en artículos de revistas científicas. Utiliza prácticamente todos los idiomas. El sitio indica entre otros las editoriales, las bibliotecas, los repositorios y las bases de datos bibliográficas. Entre sus resultados se pueden encontrar citas, enlaces a libros, artículos de revistas científicas, comunicaciones y ponencias en congresos, informes científico-técnicos, tesis, tesinas y archivos depositados en repositorios.

6) **IBECS** (Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud): es la base de datos elaborada por Biblioteca Virtual en Salud (BVS) y es de acceso gratuito. Contiene referencias de artículos de más de 200 revistas científico-sanitarias editadas en España. Incluye publicaciones sobre farmacia, veterinaria, psicología, odontología, enfermería y diversas ramas de la medicina como salud pública, epidemiología, pediatría, otorrinolaringología, endocrinología y nutrición o reumatología.

7) **LA BIBLIOTECA COCHRANE PLUS**: Permite aumentar las fuentes pues incluye la *Base de Datos Cochrane de Revisiones Sistemáticas - BDCRS (The Cochrane Database of Systematic Reviews - CDSR)* que se basa mayoritariamente en los ensayos clínicos controlados y son altamente estructuradas y sistematizadas; la base *Other Published Reviews*, que es una lista bibliográfica de revisiones sistemáticas; *el*

Registro Central Cochrane de Ensayos Controlados (The Cochrane Central Register of Controlled Trials - CENTRAL) que es una base bibliográfica que contiene más de 430.000 ensayos controlados identificados por colaboradores de la Colaboración Cochrane y, por último, *el Registro de Ensayos Clínicos Iberoamericanos*.

A mayores se han empleado otras fuentes formales, que se basan en la consulta directa de revistas especialmente sensibles al problema investigado y los principales libros de farmacología de la época. También se ha realizado la revisión de las referencias incluidas en los estudios que se han ido localizando.

En el caso de las revistas españolas no incluidas en las bases de datos informatizadas se procedió a la búsqueda manual. Esto acaeció, por ejemplo, con la Revista Clínica Española, la principal fuente de transmisión de conocimientos médicos en nuestro país en el intervalo de tiempo estudiado, en la que los números correspondientes a los años de este estudio no están indexados.

Con objeto de paliar los posibles efectos nocivos del fenómeno del sesgo de publicación y poder acceder, en la medida de lo posible, a lo que se denomina “literatura fugitiva”, se completó la búsqueda con lo que se denominan fuentes informales. Éstas engloban el contacto con expertos de reconocido prestigio en el campo para solicitarles estudios no publicados en su momento, el acceso a libros de actas de congresos, a tesis doctorales y a entidades de prestigio internacional (Rothstein y Hopewell, 2010), en el campo de la insulina en nuestro caso. En concreto dentro de este grupo se encuentra el acceso a los fondos bibliográficos de la biblioteca Banting en Canadá, el de los laboratorios Lilly en EE.UU., los laboratorios Novo Nordisk y la Fundación Steno en Dinamarca, la fundación Burroughs Wellcome en el Reino Unido y a las bases bibliográficas de Sanofi-Aventis, actuales propietarios de la farmacéutica alemana Hoechst.

Las **combinaciones de las palabras clave** utilizadas fueron las siguientes:

- ✓ Desde 1900 hasta 1949 se empleó la palabra “insulin”. Dado que el número de artículos no era excesivo para su valoración no se aplicó ningún otro filtro.
- ✓ A partir de 1950 y hasta 1969 se emplearon “insulin types”, “globin insulin”. “protamine zinc insulin”, “insulin NPH” y “lente insulin”.
- ✓ De 1970 a 1979 se añadió a lo anterior “Actrapid”.

- ✓ De 1980 a 1989 se buscaron los artículos de revisión correspondientes al término “insulin types review”.
- ✓ Desde 1990 hasta la actualidad se recogieron los artículos de revisión correspondientes a “insulin porcine” e “insulin bovine”. Este acotamiento de los términos se realizó por el aumento exponencial de los artículos que incorporaban la palabra “insulin” en su título y resumen (de 1950 a 1959 eran 3.254, de 1960 a 1969 subían a 9.234...).

Debemos de añadir que, en las bases de datos que indexan artículos en español, los términos anteriormente referidos se emplearon también en nuestra lengua.

El resumen de la metodología empleada, expuesta desde el punto de vista de las indicaciones para la valoración de un estudio de este tipo (Merino Trujillo, 2011), es:

1. *Propósito de la revisión*: el desarrollo de la insulina durante sus primeros 50 años de historia, hasta la llegada de la insulina humana sintética, la descripción y el análisis de las propiedades de las antiguas formulaciones y las indicaciones ya, en su mayoría, en desuso.
2. *Las fuentes y bases de datos empleadas* han sido las citadas previamente. La consulta se hizo desde el año 1900 hasta 1979 para artículos primarios. A partir de esa fecha se buscaron artículos de revisión y recopilaciones históricas. Se han recogido artículos escritos en cualquier idioma. Eso sí, procedentes del ámbito de influencia de la medicina occidental. También se consultaron los principales libros de farmacología de la época.
3. *El número de revistas consultadas* ha sido muy amplio pues, además de las aún existentes, se ha tenido que acudir a publicaciones ya desaparecidas pero de una importancia crucial años atrás. La estrategia de búsqueda ha sido la anteriormente referida. Nos hemos visto en la necesidad de usar diferentes estrategias en función de la época estudiada dados los distintos conocimientos existentes tanto sobre la diabetes como sobre la insulina a lo largo del tiempo.
4. *Criterios empleados en la selección de artículos*: Se han buscado los artículos originales donde se relataban las acciones de las distintas insulinas. Igualmente, se han analizado los artículos de revisión que, con posterioridad, han aparecido. También se han incluido los ensayos clínicos realizados con las mismas, con la salvedad de las primeras pues, como ya se ha comentado,

el primer trabajo con dicha metodología no apareció hasta 1948. La población de estudio han sido, evidentemente, las diferentes insulinas.

5. *De cada insulina se han analizado* sus características farmacológicas, el proceso para su obtención, el control glucémico obtenido, sus efectos secundarios y las posibles causas de su desaparición, dando por válidos aquellos artículos que abordaban cualquiera de dichas cuestiones.

No se han empleado o se han excluido de esta revisión los artículos siguientes:

1. Los que pese a tener los términos de búsqueda no se correspondía su contenido con el objetivo del trabajo.
2. Los aparecidos en revistas imposibles de obtener al no estar digitalizados ni disponibles en su versión impresa en las bibliotecas accesibles.
3. Los que eran una clara repetición o un resumen de otros publicados previamente.

No obstante, para clarificar toda la metodología empleada vamos a sintetizarla siguiendo el protocolo actual de **PRISMA-P** (Moher *et al.*, 2015) (tabla 1). Añadir que no se obtuvo un registro de PROSPERO (International prospective register of systematic reviews), que deriva directamente de emplear dicha metodología, ya que se precisa que el tema de la revisión tenga consecuencias en la forma de actuar de los clínicos (National Institute for Health Research, 2017). Al no estar comercializadas las insulinas que son objeto de nuestro estudio para uso humano esta premisa no se cumplía.

Tabla 1: Resumen de la metodología empleada siguiendo el protocolo actual de PRISMA-P.

SECCIÓN Y TEMA.	ÍTEM	ELEMENTO DE LA LISTA.
Información administrativa.		
<i>Título.</i>		
Identificación.	1a	El desarrollo de la insulina durante sus primeros 50 años de historia. Una revisión sistemática.
Actualización.	1b	No se trata de ninguna actualización. El protocolo es propio de esta revisión.
Registro.	2	Programa de Doctorado Investigación Aplicada a Las Ciencias Sanitarias de la Universidad de León.

Autores		
Contacto	3a	D. Carlos Pérez Gutiérrez : cpereg07@estudiantes.unileon.es Dra. María José García Iglesias: mjgari@unileon.es Dr. Juan Carlos Álvarez Torices: jcalvt@unileon.es
Contribuciones.	3b	D. Carlos Pérez Gutiérrez: búsqueda y análisis crítico de la literatura encontrada. Elaboración del documento. Dra. María José García Iglesias y Dr. Juan Carlos Álvarez Torices: Análisis crítico de la literatura encontrada. Supervisión del documento.
Modificaciones.	4	No ha habido modificaciones del protocolo original.
Apoyo.		
Fuentes.	5a	Ninguna.
Patrocinador.	5b	No hay patrocinador.
Papel del patrocinador o financiador	5c	Ninguno.
Introducción.		
Razón fundamental.	6	El estudio de la insulina en sus primeros 50 años de desarrollo.
Objetivos	7	<ol style="list-style-type: none"> 1. Enumerar las insulinas investigadas y/o comercializadas durante los cincuenta primeros años tras su descubrimiento. El punto que marca el final de esta revisión es el desarrollo de la insulina humana biosintética, en 1978. Por lo tanto, trabajamos con lo que se podía considerar como análogos de insulina no sintéticos de origen animal. 2. Describir las características de las mismas, las indicaciones que tuvieron y los inconvenientes que se les detectaron. 3. Pormenorizar las vías en las que se trabajó, tanto para prolongar su vida media, con lo que se disminuía el número de inyecciones diarias necesarias para el paciente, como para disminuir su pico de acción, con lo que su efecto era más rápido en las complicaciones agudas. 4. Esbozar las causas que llevaron a su desaparición dentro del arsenal terapéutico de la diabetes. 5. Reflejar el uso que las distintas insulinas han tenido en el campo de la veterinaria 6. Igualmente, se realiza una búsqueda de otras indicaciones de la insulina, fuera de la diabetes mellitus, con el fin de plasmar cómo, en ocasiones, fármacos que demuestran una gran utilidad en su campo se les supone polivalentes dentro de la homeostasis corporal.
Métodos.		
Criterio de elegibilidad.	8	Artículos originales donde se exponen las acciones de las distintas insulinas. Igualmente, se han analizado los artículos de revisión que con posterioridad han aparecido. También se han incluido los ensayos clínicos realizados con las mismas, con la salvedad de las primeras pues el primer trabajo con dicha metodología no apareció hasta 1948. La población de estudio han sido, evidentemente, las diferentes insulinas.

Fuentes de información	9	Pubmed/Medline, Scielo, Lilacs, Cuiden, Google y Google Académico, Ibecs y la Biblioteca Cochrane Plus. La biblioteca Banting en Canadá, la de los laboratorios Lilly en EE.UU., de los laboratorios Novo Nordisk y la Fundación Steno en Dinamarca, la fundación Burroughs Wellcome en el Reino Unido y a las bases bibliográficas de Sanofi-Aventis.
Estrategia de búsqueda.	10	<p>Hasta 1949 se empleó la palabra “insulin” e “insulina”, esta última para las publicaciones en nuestra lengua. Dado que el número de artículos no era excesivo para su valoración no se aplicó ningún otro filtro.</p> <p>A partir de 1950 y hasta 1969 se emplearon “insulin types”, “globin insulin”. “protamine zinc insulin”, “insulin NPH” y “lente insulin”.</p> <p>De 1970 a 1979 se añadió a lo anterior “Actrapid”. De 1980 a 1989 se buscaron los artículos de revisión correspondientes al término “insulin types review”.</p> <p>Desde 1990 hasta la actualidad se recogieron los artículos de revisión correspondientes a “insulin porcine” e “insulin bovine”. Este acotamiento de los términos se realizó por el aumento exponencial de los artículos que incorporaban la palabra “insulin” en su título y resumen (de 1950 a 1959 eran 3.254, de 1960 a 1969 subían a 9.234...).</p> <p>En las bases de datos que indexan artículos en español los términos anteriormente referidos se emplearon en nuestra lengua.</p> <p>En el caso de las revistas españolas no incluidas en las bases de datos informatizadas se procedió a la búsqueda manual. Esto acaeció, por ejemplo, con la Revista Clínica Española que los número correspondientes a los años de estudio no están indexados</p>
Registros del estudio:		
Gestión de datos.	11a	Los registros se han administrados manualmente.
Proceso de selección.	11b	Se han seleccionado cualquier artículo que se refiera a las insulinas anteriores a 1978.
Proceso de recopilación de datos.	11c	Los datos se han recopilado de forma digital, volcando la información considerada como válida en un documento de Word que posteriormente se ha sintetizado por los autores.
Elementos de datos.	12	Se han recogido los datos correspondientes a sus características farmacológicas, el proceso para su obtención, el control glucémico obtenido, sus efectos secundarios y las posibles causas de su desaparición.
Resultados y priorización.	13	Con los resultados obtenidos siguiendo los criterios del ítem 12 se ha priorizado los artículos escritos por los descubridores del tipo de insulina estudiada. Seguidamente se han valorado los autores que aportaban experiencias personales con la misma. Finalmente se ha aplicado el tamiz de los investigadores que aportaban una revisión de la misma a posteriori, si es que la había.
Riesgo de sesgo en estudios individuales.	14	Se ha dado más valor a aquellos trabajos que no provenían del país de origen de la insulina, pues se ha constatado un cierto patriotismo a la hora de aportar resultados. Además, se ha valorado que en el origen de los autores no hubiera otra insulina propia que pudiera transformar el artículo en un ataque a lo ajeno.
Síntesis de datos.	15a	No hay síntesis cuantitativa.
	15b	Los datos no son apropiados para una síntesis cuantitativa.

	15c	Siguiendo lo expuesto en el ítem 15b no hay análisis adicionales.
	15d	Se ha realizado una revisión sistemática exploratoria, realizando una síntesis de la evidencia sobre el tema con la única finalidad de describir el conocimiento existente sobre el mismo.
Meta-sesgo (s).	16	<p>No se han empleado o se han excluido de esta revisión los artículos siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Los que pese a tener los términos de búsqueda no se correspondía su contenido con el objetivo del trabajo. 2. Los aparecidos en revistas imposibles de obtener al no estar digitalizados ni disponibles en su versión impresa en bibliotecas accesibles. Para evitar el sesgo correspondiente a su exclusión se han analizado los resúmenes de las mismas. Se llegó a la conclusión de que eran publicaciones locales de datos que ya aportaban otras revistas de mayor difusión y, por ende, disponibles. 3. Los que eran una clara repetición o un resumen de otros publicados previamente.
Confianza en la evidencia acumulada.	17	La evidencia acumulada con este estudio es una compilación exhaustiva de las características de las insulinas bien porcinas bien bovinas existentes hasta la década de los años 70 del siglo XX.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS

En primer lugar queremos destacar que la búsqueda en las bases de datos Medes, Scielo y Lilacs fue poco fructífera. Aunque empleando el término “tipos de insulina” obtuvimos 295, 64 y 157 artículos respectivamente, apenas tres de ellos nos fueron de utilidad. Esto se debe a que plataformas son excesivamente jóvenes, ya que incluyen trabajos a partir de 1998, 1997 y 1996 respectivamente, para un trabajo de base histórica como este. Lo mismo ocurrió con la biblioteca Cochrane Plus. Aunque la búsqueda arrojó 86 artículos tan sólo 6 eran anteriores al año 2000.

Por lo tanto, la búsqueda se centró en PubMed. Google académico no nos aportó apenas datos que no estuvieran antes recogidos a través de Pubmed.

Con el término “insulin” entre 1920 y 1949 se recopilaron 547 artículos de los que se analizaron, tras valorarlos por los criterios de inclusión, un total de 126. De los 421 excluidos 46 pertenecían a revistas imposibles de localizar, en 312 su temática no se correspondía con nuestro estudio y 63 eran publicaciones repetidas.

Entre 1950 y 1979 se encontraron, usando los términos de la búsqueda expuestos en material y métodos, 1.189 artículos. De ellos 81 pertenecían a revistas a las que el acceso era imposible, 103 eran publicaciones repetidas y 929 no correspondían a nuestro tema de estudio, siendo seleccionados para su análisis un total de 76.

Desde 1980 hasta nuestros días el total de artículos fue de 706, de los que 11 estaban publicados en revistas ilocalizables, 24 eran publicaciones repetidas, 547 no se correspondía la temática y 124 fueron elegidos. En total, de la búsqueda en PubMed arrojó un total de 2.442 artículos de los que se analizaron 326.

A ello hay que añadir la búsqueda manual en la Revista Clínica Española de todos los números entre 1940 a 1959, que arrojó un total de 36 artículos que versaban sobre la diabetes, de los que se analizaron 10 que entraban en nuestro tema de estudio. Esta revista se eligió al ser la principal portadora de los conocimientos médicos en nuestro país durante esa época. El flujo de elección de artículos se recoge en la figura 5 siguiendo las recomendaciones PRISMA (Cavero-Redondo *et al.*, 2017).

Queremos destacar que, en dicha búsqueda, no encontramos artículo alguno que tuviera la misma finalidad de este trabajo, no existiendo ninguna revisión sistemática de todas las antiguas insulinas de origen bovino y/o porcino.

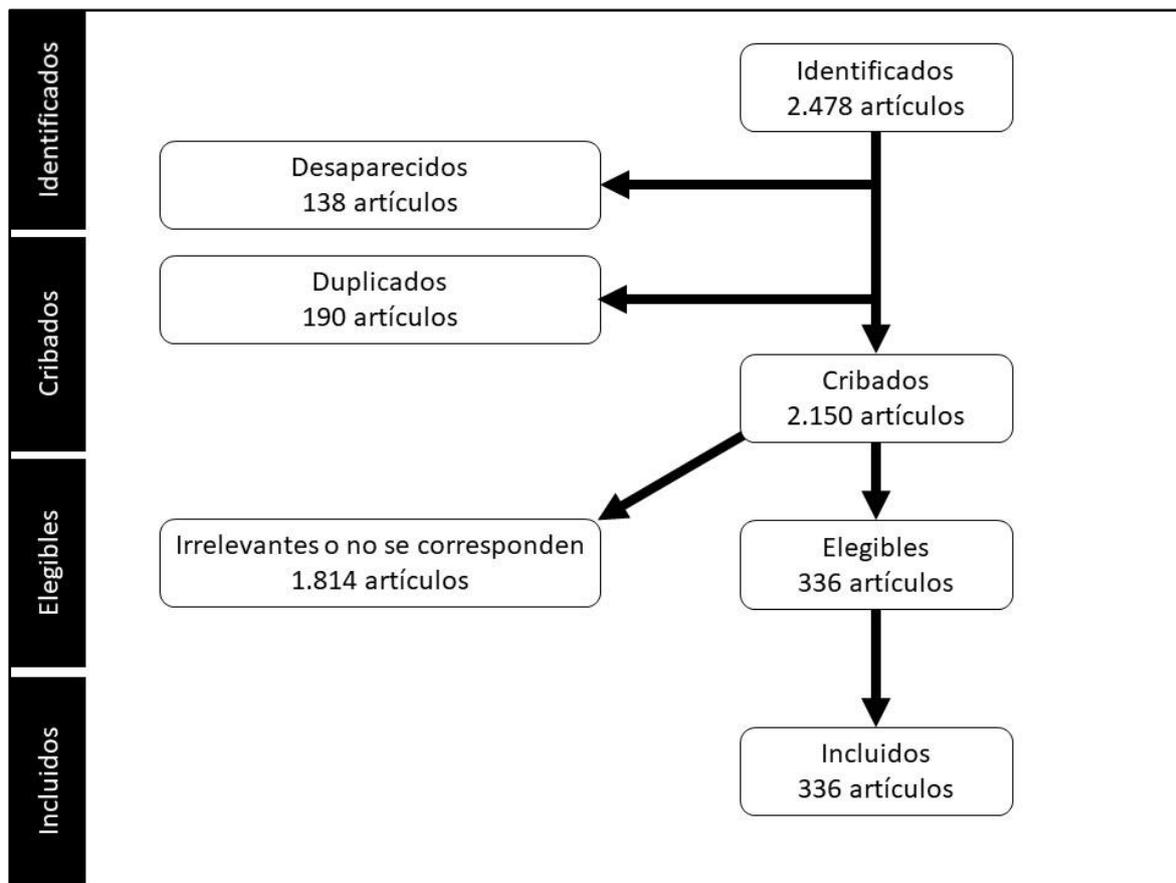


Figura 5: Flujo de elección de artículos.

Para evitar el sesgo que podían introducir los artículos de las revistas ilocalizables se analizaron los resúmenes de los mismos en el caso de que se dispusiera de ellos, cosa que ocurría en 113 (82 %). Se llegó a la conclusión que su temática ya estaba incluida en los artículos disponibles, por lo que, a nuestro juicio, no suponían ninguna desviación dentro de este tema de estudio.

6.2. LOS PRIMEROS PASOS HACIA LA INSULINA

Si bien la primera asociación con base científica entre el páncreas y la diabetes la hizo en 1877, a partir de la autopsia de cuatro pacientes fallecidos por la enfermedad, el francés **Etienne Lancereaux** (Peumery, 1989) el primer estudio experimental lo proporcionaron, en 1889, el lituano **Oskar Minkowsky** y el alemán **Josef Von Mering** (figura 6). Consiguieron, empleando perros, su producción experimental mediante una pancreatometomía total. La conclusión a la que llegaron era que el páncreas era capaz de producir una sustancia cuya carencia era la responsable de la enfermedad (Von Mering y Minkowski, 1890). Apoyaban así la idea expuesta por **Édouard Laguesse** en 1893 sobre que el tejido de los islotes

producía una secreción interna, siendo probablemente el primer diabetólogo que lo sugirió (Whipple, 1952). Sus resultados hicieron canalizar los estudios sobre la diabetes hacia los extractos de esa glándula. Así se dejaban en un segundo plano otras teorías existentes hasta ese momento que situaban el origen de la enfermedad en el hígado, el tiroides, las células cromafines o el riñón (Garrison, 1923). Añadir que es curioso cómo el método del lituano y del alemán fue el empleado para producir la diabetes experimental hasta que, en 1943, **Dunn y McLetchie** descubrieron que una sustancia, el aloxano, producía una destrucción directa de las células beta, logrando una forma mucho más fácil de inducirla (Dunn y McLetchie, 1943). Posteriormente vendría la estreptozotocina (Lenzen, 2008). Siguiendo con su trabajo, en 1890 Minkowsky aplicó el primer extracto seco de páncreas con un nulo resultado. Le denominó “pancreína” (de Leiva Hidalgo *et al.*, 2006). Probablemente bien la falta de purificación bien las sustancias que empleó para su extracción, que inactivaran la insulina, fueran los culpables de este primer fiasco.

Por otra parte, también en 1889, **Diamare** demostró que en algunos teleósteos, en concreto en el bacalao, el eglefino, la platija y la escorpina, el tejido de los islotes estaba separado del tejido acinar (Whipple, 1952).

Ya en pleno siglo XX, en 1901, esta vez en los Estados Unidos, **Eugène Lindsay Opie** llegó, mediante una serie de estudios histológicos, a la conclusión de que la diabetes mellitus estaba causada por la destrucción de los islotes de Langerhans y que ésta ocurre sólo cuando éstos están parcial o totalmente anulados (Opie, 1901). Esta observación junto con los experimentos en animales, llevados a cabo entre 1900 y 1902, sobre la ligadura del conducto pancreático de **Ssobolew**, el pionero en esta técnica, que daban lugar a unas células acinares atrofiadas acompañadas de unos islotes intactos y un fenotipo no diabético, implicaron definitivamente a los islotes pancreáticos en la etiología de la diabetes (Borgoño and Zinman, 2012).

Posteriormente, en 1905, en Alemania **Georg Ludwig Zuelzer** (figura 6) obtuvo de los terneros un extracto pancreático. Para su extracción empleaba alcohol. Con él era capaz de reducir los síntomas diabéticos en los perros pancreatectomizados (Zuelzer, 1908). Sus experimentos habían comenzado ya en 1903. Pese a tener una casuística de tan sólo 8 pacientes patentó su extracto en 1912 (“Acomatrol®” Schering Gmb). Pero sus graves efectos tóxicos, como la hiperpirexia o las convulsiones, forzaron a su retirada del mercado (Pérez, 2016). No obstante, como bien remarcaba el Dr. Hodgson en su revisión sobre la enfermedad de 1912, en esas fechas, los fármacos disponibles se debían de evitar, pues ninguno había mostrado ser efectivo para el tratamiento de la enfermedad diabética (Hodgson, 1912).

Hacer un inciso en este punto a cerca de la seguridad de los medicamentos y su evolución en el tiempo. Si bien, por ejemplo, en Estados Unidos existía desde 1906 la Ley de Alimentos y Medicamentos, que hacía cumplir el “Bureau of Chemistry” del Departamento de Agricultura (USDA), agencia antecesora de la actual Food and Drug Administration (FDA), ésta era terriblemente benévola con los fabricantes. Hizo falta el desastre terapéutico de 1937 para cambiar las cosas. Ese año una compañía farmacéutica de Tennessee comercializó un Elixir de Sulfanilamida como un fármaco “maravilla” para los niños. Dicho “fármaco” se vehiculaba en etilenglicol, que no había sido probado en humanos. Resultó ser un análogo químico del anticongelante, altamente tóxico. Produjo la muerte de más de 100 personas que, desgraciadamente, en su mayor parte, eran niños. Esto llevó, el 25 de junio de 1938, al presidente Franklin Delano Roosevelt a firmar la Ley de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos. Ésta exigía que los medicamentos se etiquetaran con las instrucciones adecuadas para un uso seguro. Además, imponía que, previamente a la comercialización, hubiera una aprobación de todos los medicamentos nuevos, de forma tal que un fabricante tendría que demostrar a la FDA, que desde entonces se denominaba así, que un medicamento era seguro antes de poder venderlo. Prohibía de forma irrefutable la falsa publicidad. También autorizó las inspecciones formales de las fábricas. En el caso de encontrar fallos o ilegalidades su informe podía desencadenar una serie de medidas cautelares y/o punitivas (U.S. Food and Drug Administration a y b, 2017). Otro tanto ocurría en Europa, pero cada país tenía sus propias instituciones y normas. Por lo tanto, se debe de tener en cuenta que en toda la experimentación con las insulinas y los extractos antidiabéticos previos existía una cierta falta de controles antes de su aplicación en humanos, por lo menos hasta bien pasado el fin de la segunda guerra mundial, que acaeció el 2 de septiembre de 1945 con la rendición del Imperio Japonés.

Siguiendo con los extractos pancreáticos, también en 1905, en Francia **Marcel Eugène Gley** empleó lo que quedaba del páncreas después de esclerosar el tejido acinar por medio de la ligadura del conducto. Descubrió que las inyecciones intravenosas de tales extractos eran capaces de reducir el azúcar en la orina de los perros diabéticos. Esto le afirmaba en la teoría que sostiene que la diabetes mellitus era causada por una disfunción del tejido de los islotes. No obstante, abandonó esta línea de investigación, que no dio a conocer hasta 1922, probablemente porque no estaba muy convencido de sus propios resultados (Jácome Roca, 2016).

Ya en 1907, **John Rennie** y **Thomas Fraser** en Aberdeen (Escocia) trabajaron con los islotes del páncreas de ciertos peces. Desgraciadamente la mayoría de sus pruebas eran por vía oral. Tan sólo en una ocasión lo hicieron con un extracto acuoso por vía

subcutánea. No observaron ninguna mejoría en la glucosuria, pero si aparecieron una serie de efectos tóxicos de una cierta trascendencia (Rennie y Fraser, 1907).

Más tarde, en 1909, **Jean De Meyer**, un médico belga, con sus investigaciones ayudó a desterrar la idea de que la diabetes producida por la pancreatectomía era debida al daño producido en el plexo nervioso que lo rodea. En su trabajo de ese año (De Meyer, 1909) escribió *“la secreción interna del páncreas, que creemos que procede de los islotes de Langerhans, al que se podría llamar “insuline” (el artículo original está en francés) es la responsable, en su ausencia, de la diabetes”*.

Es curioso cómo, con los pocos datos disponibles, en 1912 **Knowlton y Starling** postularon que la hormona pancreática debía difundirse fácilmente por el cuerpo. Además, tenía que ser soluble en agua, inestable en una solución alcalina mientras que aumentaba su estabilidad en un medio ácido y, finalmente, no se destruiría inmediatamente en líquidos hirviendo. Salvo en lo referente a su poder de difusión, el resto era correcto (Best y Scott, 1923).

Posteriormente, entre 1911 y 1912, **Ernest Lyman Scott**, que desarrollaba sus investigaciones en la Universidad de Chicago, usó una serie de extractos acuosos pancreáticos para la disminución de la glucosuria. Desgraciadamente no logró convencer de su utilidad a su director por la escasa potencia que mostraban. Al final descartaron esa línea de investigación (Sfetcu, 2014). Probablemente al emplear alcohol al 85 % en la fase previa a la extracción del páncreas inactivara parte de la acción de la insulina (Best y Scott, 1929). Pero la gran razón de que no se desarrollara este trabajo fue la oposición frontal que tuvo del gran gurú de la diabetes en aquellos tiempos, **Frederick Madison Allen**. Éste hizo todo lo posible para desacreditar a Scott y, evidentemente, lo logró (Lestradet, 1993).

En 1913, **John Murlin y Benjamin Kramer** prepararon una serie de extractos alcalinos del páncreas que reducían la glucosuria en los perros. Sin embargo, lograban el mismo efecto inyectando sólo el álcali que empleaban, sin el extracto pancreático. Abandonaron esta línea experimental, pues concluyeron que el extracto pancreático no mejoraba el metabolismo de los hidratos de carbono en el perro (Murlin y Kramer, 1913). A día de hoy no está muy clara la razón de los resultados de este trabajo, con un diseño muy avanzado para su época. Curiosamente nadie más ha logrado reducir la glucosuria con sólo un álcali.

No obstante, siguiendo una vía similar a la del anterior, en 1919 el estadounidense **Israel Simon Kleiner**, en la Universidad Rockefeller, logró reducir la glucemia en una serie de perros pancreatectomizados utilizando una solución acuosa de páncreas

fresco con cloruro sódico al 0,9 % (Kleiner, 1919). Este autor no pasó de ahí pues pensó que el efecto se debía a la nefrotoxicidad del preparado que evitaba la eliminación de la glucosa por la orina. Es más, algunos de los perros presentaron posteriormente una anuria, lo que le confirmaba en su teoría. Eso sí, fue uno los primeros científicos en utilizar las mediciones seriadas de la glucemia en sus estudios (Sfetcu N, 2014).

Por su parte, en Rumanía, **Nicolae Paulescu** (figura 6) aisló por primera vez en 1916 lo que él llamó pancreína. Comprobó que inyectada en los perros diabéticos lo mejoraba. Incluso a veces era tan potente que los mataba de hipoglucemia (Paulescu, 1921). Sin embargo, no la logró purificar lo suficiente como para tener una casuística suficiente en humanos. Su publicación, seis meses antes que los trabajos de los canadienses, ha levantado una gran controversia a cerca de quien descubrió realmente la insulina (Sfetcu N, 2014). La sustancia la patentó el 10 de abril de 1922 en el ministerio de industria de Rumanía (De Leiva Hidalgo *et al.*, 2009). Pero él mismo había detenido sus experimentos clínicos por la aparición de una serie de efectos tóxicos graves, entre los que destacaba la fiebre aguda (De Leiva Hidalgo *et al.*, 2009b). Es evidente que el no poder aportar datos positivos de su empleo en humanos inclina claramente la balanza a favor de los canadienses como los descubridores de la insulina de uso en la clínica humana.

El problema de base de todos estos extractos previos a la insulina canadiense era la falta de purificación, con la consecuente presencia de fermentos de la secreción externa y/o de otras sustancias pancreáticas, que producían bien la falta de acción bien sus efectos secundarios (Velázquez, 1955).

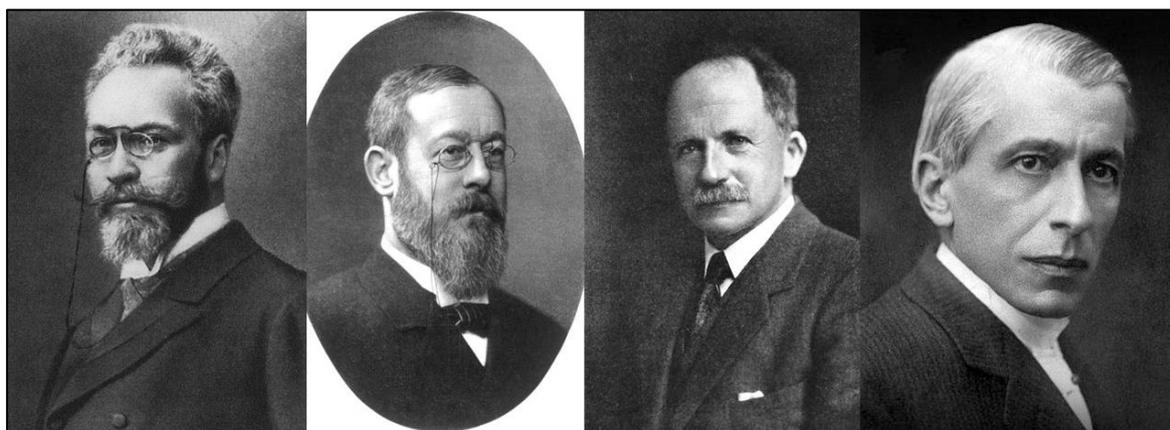


Figura 6: De izquierda a derecha Oskar Minkowsky, Josef Von Mering, Georg Ludwig Zuelzer y Nicolae Paulescu (imágenes Creative Commons licenses, procedentes de Wikipedia).

6.3. LAS INSULINAS

6.3.1. INSULINA REGULAR O AMORFA

Fue en Canadá donde se logró desarrollar la primera insulina que tuvo una trascendencia real. Basándose en los trabajos de su compatriota **William George MacCallum**, que demostraban que la ligadura de los conductos pancreáticos producía una atrofia del páncreas que no afectaba a los islotes de Langerhans, en 1922 **Frederick Grant Banting** y **Charles Herbert Best** lograban aislar, en tan sólo nueve semanas de experimentos (Stylianou y Kelnar, 2009), la primeramente denominada islaetina (Banting, 1928) en el laboratorio del **Dr. Macleod** (figura 7).

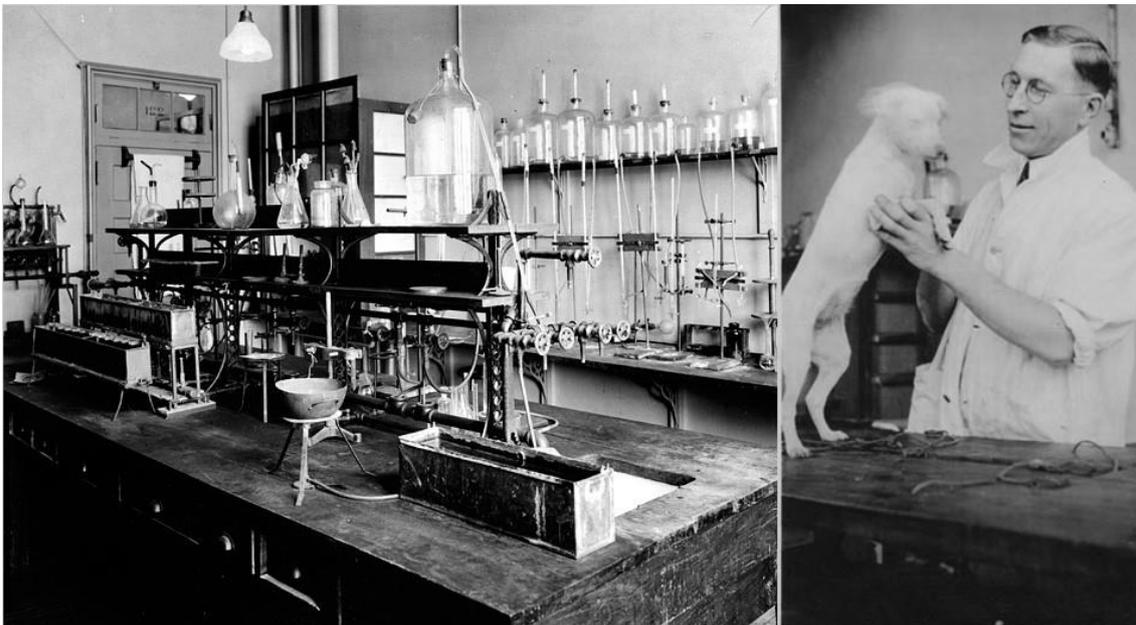


Figura 7: Laboratorio donde se trabajó con la primera insulina de aplicación clínica. Banting con uno de los perros (fondo fotográfico de la Universidad de Toronto).

En su primer trabajo (Banting y Best, 1922) concluyen a cerca de su extracto que:

- El obtenido con ácido al 0,1 por ciento era eficaz para disminuir la glucemia usado por vía endovenosa pero no por vía rectal.
- Su acción era paralela a la cantidad inyectada.
- Ni la solución salina por sí sola ni los extractos de otras glándulas disminuían la glucemia.
- El jugo pancreático destruía el principio activo del extracto.
- El extracto, preparado en solución salina neutra y mantenido en cámara frigorífica, conservaba su potencia durante, al menos, siete días. Sin embargo, si era hervido no tenía ningún efecto sobre la reducción del azúcar en la sangre.



Figura 8: “The Dream Team” de la insulina. De izquierda a derecha Frederick Grant Banting, John James Rickard MacLeod, James Bertram Collip y Charles Herbert Best en la época del descubrimiento de la insulina (imágenes de la colección de la insulina de la Universidad de Toronto).

El problema era como extraer en cantidad suficiente de la entonces llamada *islaetina*, a la que llamarían posteriormente *insulina* usando la denominación empleada previamente por **Jean de Meyer** en Bélgica en 1909 y por **Schafer** en Edimburgo en 1910 (Banting, 1928). La solución la aportó el químico **James Bertram Collip** (figura 8), al que había incluido en el grupo de investigación el Dr. Macleod, logrando estabilizarla mediante una precipitación fraccionada mediante alcohol (MacLeod, 1922; Collip, 1923).

El paso siguiente fue utilizar este extracto en humanos. Se decantaron por la vaca para su obtención. El páncreas de este animal es mayor y, consecuentemente, se obtenían unas cantidades más grandes de la sustancia. El 11 de enero de 1922 Leonard Thompson, un muchacho de 14 años y 29 Kg de peso, la recibió por primera vez en el Hospital General de Toronto (figura 9). Aunque ese día los resultados no fueron los esperados si lo lograron el día 23, tras el empleo del método de trabajo de Collip, mencionado previamente (Banting *et al.*, 1922; Geyelin HR *et al.*, 1922). Collip había cumplido con la función que le estaba específicamente asignada como bioquímico experto. Había preparado un extracto más puro, refinando el método de Banting y Best tal y como Macleod le había solicitado. Su extracto era más adecuado para ser inyectado en las pruebas clínicas en una persona. El resultado fue que, por primera vez en la historia, un extracto de páncreas había tenido un éxito inequívoco produciendo un efecto antidiabético en un ser humano sin la aparición de unos efectos secundarios inaceptables (Mocon, 2008). Además, este trabajo (Banting *et al.*, 1922) proporcionó un ejemplo de que no hay necesidad de realizar

una investigación cuidadosamente controlada, que es por lo general la necesaria para proporcionar una evidencia confiable sobre los efectos de la mayoría de los tratamientos, cuando los resultados son tan espectaculares (Glasziou *et al.*, 2007).



Figura 9: A la izquierda Leonard Thompson antes y después del tratamiento con insulina. A la derecha James Havens en 1921. Sería el primer americano que recibió insulina en EE.UU. (fondo fotográfico de la Universidad de Toronto).

En un corto espacio de tiempo se añadieron más pacientes diabéticos a los estudios con la insulina. Entre ellos Elizabeth Hughes Gossett, hija del ex gobernador del estado de Nueva York, candidato presidencial republicano de 1916 y secretario de Estado del presidente Warren G. Harding en ese año (figura 10). La joven, que medía 151 cm, pesaba tan sólo 20 Kg tras la dieta a la que le había puesto el Dr. **Frederick Madison Allen** en su clínica de EE.UU. Tal fue el éxito de la insulina canadiense en ella que fallecería a la edad de 74 años, en 1981. Este caso, como tantos otros, demuestra inequívocamente la utilidad del tratamiento (Zuger, 2010). El efecto inmediato de la insulina sobre la diabetes fue que su mortalidad decayó en pocos años del 38,1 % al 5,2 % (MacDermon, 1927).



Figura 10: Recorte del periódico Toronto Daily Star en el que se da la noticia sobre el tratamiento en Toronto de la hija del Secretario de Estado de Estados Unidos (fondo fotográfico de la Universidad de Toronto).

En la primavera de 1922 **George Clowes** (figura 11), el director de investigación de una compañía farmacéutica estadounidense llamada Eli Lilly, firmó un contrato con los canadienses para producir la insulina. El que más abogó por esta alianza fue el Dr. Banting, pues no estaba convencido de que la farmacéutica canadiense (The Connaught Laboratories) fuera capaz de producir industrialmente la insulina en la cantidad necesaria para atender a todos los diabéticos (Rosenfeld, 2002).

El método inicial de extracción, por medio de alcohol, lograba una relativa gran pureza. Sin embargo, no obtenía un buen rendimiento a nivel industrial (Macleod, 1922b). En otoño Clowes contrató al ingeniero químico **George Walden** (figura 11). Éste observó que llegando al punto isoelectrico se fuerza al máximo la extracción de la insulina del páncreas (McCormick, 1971). En 1922 Eli Lilly ya producía cantidades suficientes para la comercialización de la insulina, tanto de origen bovino como porcino (figura 11). Consiguen extraer unas 3.500 U por cada kg de tejido pancreático (Best, 1930). Con la metodología previa sólo se había logrado obtener inicialmente 40 U y luego 400 U por kg (Best y Scott, 1923). Además, según el contrato con Ely Lilly, de los lotes que proveía esta farmacéutica a la Universidad de Toronto, un 28 % eran a un coste cero y un 12 % más al coste de fabricación, lo que

permitía que los canadienses trataran sin problema a los niños diabéticos sin recursos (McCormik, 1971).

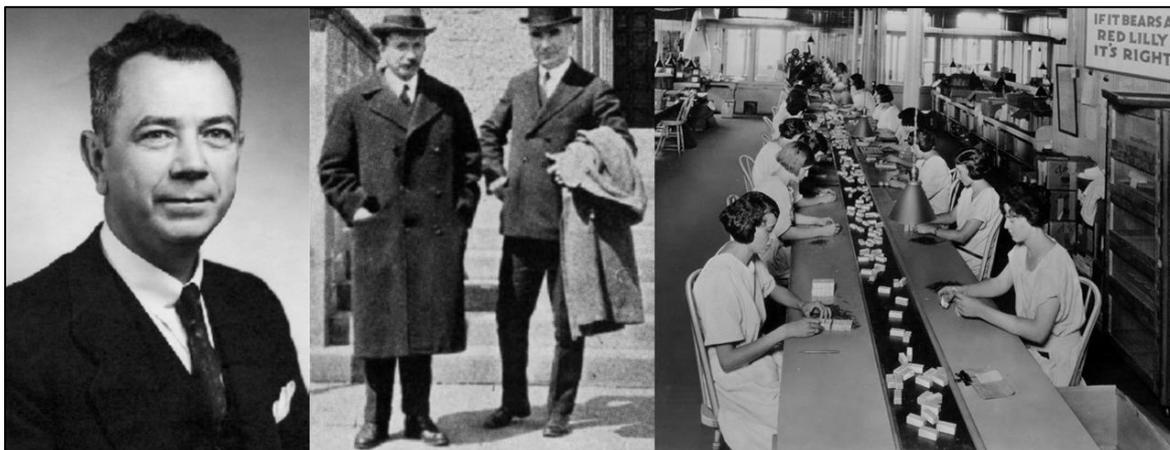


Figura 11: de izquierda a derecha el ingeniero químico George Walden, John Macleod con George Clowes y fabricando insulina en los laboratorios Lilly en 1924 (fotos cortesía de laboratorios Lilly).

Las técnicas para la eliminación de las impurezas disminuyeron claramente la incidencia de las reacciones locales en el lugar de la inyección. Desgraciadamente no mejoraron el efecto de la insulina como agente terapéutico específico, pues a una mayor purificación había un menor tiempo de acción (Best, 1937). Parecía que las impurezas hacían de retardante. Un hecho que se constataría más y más con los años.

En resumen, **los métodos usados inicialmente para extraer la insulina** fueron:

- ✓ Inicial: Se trituraba la glándula en un mortero con una solución de Ringer y arena (para su completa pulverización). Luego se filtraba y se administraba lo obtenido a los perros (Banting y Best, 1922).
- ✓ La extracción con alcohol junto a la adicción de ácido clorhídrico al 0,2 %. Seguidamente se eliminaba el alcohol por evaporación o por vacío. El residuo se disolvía en una solución salina para su posterior inyección. Con el extracto obtenido con esta metodología el perro 33 (Marjorie) vivió un total de 70 días. A lo anterior, en ocasiones, se añadía tolueno para eliminar los lípidos. Lo que no podían era filtrarlo con un filtro Berkefeld, basado en microporos cerámicos, pues perdía su actividad casi por completo (Best y Scott, 1923).

- ✓ Método de Collip: Se mezclaba la glándula con la misma cantidad de alcohol al 95 %. Posteriormente se dejaba reposar la mezcla unas horas, removiéndola paulatinamente. Se filtraba y se añadía de nuevo alcohol, que se había evaporado en gran medida, para lograr que éste estuviera al 80 %. Se realizaba un nuevo filtrado y se ponía al vacío para que se concentrara. Luego se pasaba por éter para que se eliminaran las sustancias lipoideas. A esta sustancia pastosa se la volvía a añadir alcohol al 80 % y se la centrifugaba. La sustancia activa quedaba disuelta en el alcohol, en la parte superior del tubo, y luego se separaba. Se volvía a eliminar el alcohol por evaporación y se añadía entonces, otra vez más, alcohol al 95 %. En estos momentos la insulina era insoluble en el alcohol y formaba precipitados. Se filtraba a contrapresión con un embudo Büchner, se disolvía en agua destilada y se volvía a concentrar para eliminar los restos de alcohol. Con este procedimiento se obtuvo la primera insulina que realmente funcionó administrada en el Hospital de Toronto a un humano (Banting y cols, 1922).
- ✓ Primer método Universidad de Toronto/Ely Lilly and Company: Se extraía el páncreas y se mezclaba con una cantidad igual de acetona al 95 %. Se añadía una pequeña medida de ácido fórmico, cuya concentración no debía de exceder del 0,1 %. Se dejaba reposar la mezcla unas horas y se filtraba para después dejarlo en bandejas revestidas de esmalte de 45x45x6 cm (su volumen era aproximadamente de unos 500 ml) con una corriente de aire caliente pasando sobre ellas. El residuo se enfriaba a 0 grados y se filtraba, con lo que se eliminaba el residuo lipídico. Se le añadía alcohol etílico al 95 % hasta lograr una concentración de alcohol al 80 %. Se filtraba de nuevo y se añadían 5 o más volúmenes de alcohol al 95 %. Entonces se formaba, en 24 a 48 horas, un precipitado en el fondo de la solución alcohólica. Se decantaba el alcohol y por vacío se eliminaban los últimos restos. El precipitado se disolvía en agua destilada. Este fue el primer método explotado por Lilly para la comercialización de la insulina (Best y Scott, 1923).
- ✓ Método del ácido benzoico (Moloney y Findlay, 1923): Se extraía el extracto del páncreas picado. Se mezclaba con alcohol y posteriormente el filtrado se concentraba con una cámara de vacío. Por cada litro de concentrado acuoso se añadían 50 ml de benzoato sódico al 25 % y 12,5 ml de ácido hidrociorhídrico. Se dejaba precipitar y la solución se filtraba de nuevo. Ésta ya se componía en dos terceras partes de insulina. El filtrado se trataba con 40 ml de benzoato sódico y 10 ml de ácido hidrociorhídrico formando un nuevo precipitado. Se volvía a filtrar. Se añadía entonces una pequeña

cantidad de alcohol etílico al 80 %. El filtrado se concentraba en seco en una cámara de vacío y el ácido benzoico, resultante de haber añadido el benzoato sódico, se retiraba con éter. Se añadía agua y la insulina estaba en ésta. Por este método se produjeron en Toronto 250.000 UI de insulina en 1923 (Best y Scott, 1923).

- ✓ Extracción con agua: se añadían 300 ml de agua destilada y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado por cada 2 libras (900 gramos) de páncreas triturado de bovino. A los 20 minutos se añadía un litro de agua hirviendo y se bajaba la temperatura a 80 grados mediante aire, manteniendo esta temperatura dos minutos. Se vertía en un matraz y se enfriaba rápidamente conectándolo a una bomba de vacío. Luego se filtraba y se extraían las glándulas con un litro de agua acidificada a temperatura ambiente durante tres horas con un posterior filtrado (Best y Scott, 1922).
- ✓ El método de Doisy, Somogyi y Shaper: precipitaban la insulina con una solución acuosa al 50 % de sulfato de amonio. La llamaban precipitación isoeléctrica (Doisy *et al.*, 1923). El mismo método, pero empleando distintas concentraciones del ion hidrógeno para la precipitación isoeléctrica, lo empleó posteriormente George Walden, bajo la dirección del Dr. Clowes, para la producción comercial del laboratorio Eli Lilly and Company (Best y Scott, 1923).

Las primeras preparaciones de insulina estaban en forma de polvo o de tabletas y tenían que ser disueltas en agua hervida por los propios pacientes. Esto provocaba muchos abscesos estériles. La colaboración con la compañía Eli Lilly, desde mayo de 1922, culminó en la obtención de soluciones puras y potentes de insulina bovina estéril. La producción comercial de la insulina desarrollada por Eli Lilly llevó a su disponibilidad para la atención clínica en todo el mundo de una solución de insulina en tan sólo dos años (Stylianou and Kelnar, 2009).

También se trabajó con los páncreas de otros animales, especialmente de algunos peces. Se logró la extracción del bacalao usando ácido pícrico. Aunque su páncreas tiene porcentualmente 10 veces más insulina que el de los mamíferos, el tamaño de la glándula de este pez lo descartó para su uso (Dudley, 1924). También se buscó en otras especies. En 1924 se abandonó esta vía, de la que había sido un abanderado el propio Macleod, que se retomó esporádicamente tanto en Alemania como en Japón durante la segunda guerra mundial. Es más, en el país del sol naciente produjeron insulina del páncreas de los túnidos hasta 1956 (Wright, 2002).

Una vez lograda la extracción de la insulina era evidente que se debía de medir la potencia de la misma. **La insulina regular o insulina corriente** era una solución de **insulina amorfa** en ácido clorhídrico diluido, valorada en unidades. Se determinó que **una unidad** era la dosis requerida para reducir la glucemia de un conejo normal de 2 kilos de peso, tras veinticuatro horas de ayuno, desde la cifra normal (120 mg por 100 ml) hasta 45 mg en cuatro horas (The Insulin Commyttee Of The University Of Toronto, 1923). Este concepto era el propuesto por el equipo de Toronto (Banting *et al.*, 1922b). Desde la Conferencia de Edimburgo de 1923 ésta reemplazó totalmente a la unidad “H”, que se empleaba en los ensayos clínicos en humanos (H=Human), que equivalía aproximadamente a 0,7 U (Lacey, 1967).

Es evidente que un fármaco de esta índole se empezó a fabricar rápidamente en todo el mundo occidental. Así en 1922 lo hacían *Connaught Laboratories* en Canadá y *Ely Lilly* EE.UU. En 1923 la producían la *British Drugs Houses Ltd* y la *Burroughs Wellcome and Co.* en el Reino Unido, en Alemania la *Farbwerke Hoechst*, en Australia la *Commonwealth Serum Laboratories*, en Dinamarca *Nordisk Insulin Laboratorium* y en los Países Bajos *NV Organon*. Posteriormente se añadieron a esta lista de fabricantes en 1924 *Squibb & Sons* en EE.UU. y, en 1925, *Novo Therapeutisk Laboratorium* en Dinamarca (Owens, 2013) (figura 12).



Figura 12: Varias de las primeras insulinas disponibles (Varias fuentes).

Entre las empresas referidas destacar por su importancia en la actualidad el caso de la alemana *Farbwerke Hoechst*. Inicialmente era una fábrica de tintes que puso en la dirección de su sección farmacéutica al Dr. **Oskar Minkowski**, del que ya hemos hablado. Ha sido uno de los laboratorios precursores de la actual Sanofi Aventis.

De otra parte, en 1923, en Dinamarca **Hans Christian Hagedorn** y el premio Nobel **Schack August Steenberg Krogh** fundaron la *Nordisk Insulinlaboratorium*. Éste último había llevado, en diciembre de 1922, la licencia canadiense para fabricar la insulina en Escandinavia. Comercializaron su insulina con la marca “Leo” por la participación económica de **August Kongsted**, que puso en esta tarea a su empresa farmacéutica (Leo Pharmaceutical Products). Lograron tratar al primer paciente danés con su insulina en marzo de 1923 (Novo Nordisk A/S, 2011). Igualmente destacar al ingeniero **Harald Pedersen** y a su hermano **Thorvald Pedersen**, químico, que fundaron, también en Dinamarca, la *Novo Therapeutisk Laboratorium*. Habían trabajado previamente para Nordisk. Las discrepancias entre Hagedorn y Harald desembocaron en el despido de este último. Con él, como era de suponer, se marchó su hermano. En 1924 habían logrado producir su insulina, que comercializaron el 16 de febrero de 1925 como insulina Novo. Ese mismo año también pusieron a la venta la jeringa de la misma marca, que podría considerarse como la primera pluma de insulina de la historia. Finalmente, desde 1989, ambas farmacéuticas danesas se fusiona bajo el nombre *Novo Nordisk* (Novo Nordisk A/S, 2011) (figura 13).

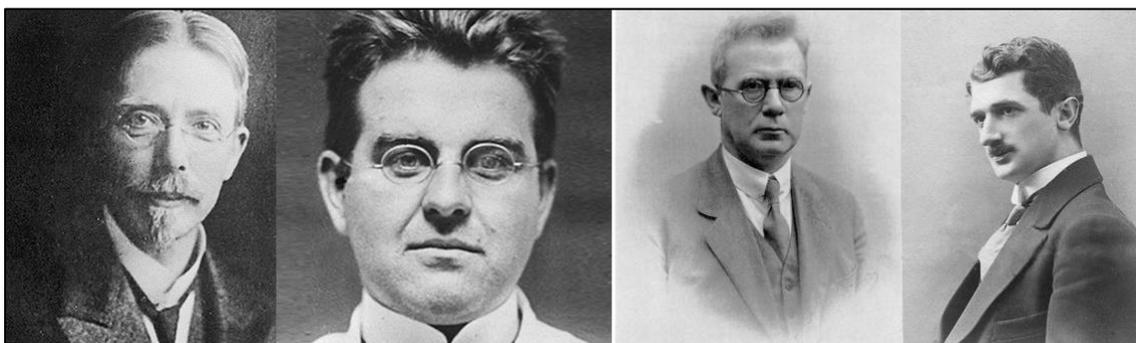


Figura 13: Los implicados en el inicio de la insulina en Dinamarca. De izquierda a derecha Schack August Steenberg Krogh, Hans Christian Hagedorn, Harald y Thorvald Pedersen (cortesía de laboratorios Novo Nordisk).

Por aquellos años los datos disponibles de la efectividad de la insulina sobre la hiperglucemia consistían en una simple enumeración de los resultados de cada investigador (Rowe, 1923; Thompson, 1924; Maclean, 1927). Como ya se ha comentado previamente, el primer ensayo clínico no se desarrolló hasta 1948 (López Arrieta y Qizilbash, 1996). Por medio de estas observaciones también se describieron otros efectos paralelos. Se puso de manifiesto que aumentaba el volumen sanguíneo, probablemente por un aumento de la osmolaridad (Handale y cols, 1924). Igualmente se dedujo que tenía un efecto estimulador sobre el crecimiento de algunas células al aumentar la fermentación láctica, lo que implicaba un aumento de los *Lactobacillus bulgaricus* y, en menor cantidad, de los *Lactobacillus acidophilus* (Noyes y Estill, 1924). Es curioso cómo se tardó muchos años en valorar esta acción, que en algunos casos puede producir un aumento de los tumores y que ha sido la causa del abandono de la investigación de varios análogos de insulina en los últimos años (Hernández Mijares *et al.*, 2010).

Evidentemente, a la par de su efectividad iban apareciendo los efectos secundarios. Prácticamente todos los que trabajaron con ella hacían mención a la hipoglucemia y a las convulsiones que ésta producía. Enseguida se supo que su aparición dependía del estado nutricional previo y de la disminución de la glucemia por debajo de los 45 mg/ml (McCormick *et al.*, 1923). Incluso algunos autores ya destacaban la aparición de síntomas no tan intensos de hipoglucemia con valores por debajo de 70 mg/ml (Callis, 1924). No obstante, también aparecieron paulatinamente otros efectos deletéreos como, por ejemplo, las atrofias grasas en el punto de inyección (Mentzer y Dubray, 1927; Rabinowitch, 1928). Igualmente se constató que producía un aumento de peso (Macleod *et al.*, 1930). Eso sí, al menos se observó que no interfería en el crecimiento de los niños (Goldblatt and Ellis, 1931).

Dado que su principal problema era la hipoglucemia, se estudiaron con una mayor profundidad los problemas que producía ésta, que eran (Ernstene and Altschule, 1931):

- ✓ Durante la misma aumentaba la frecuencia cardíaca y la presión del pulso. Esto se traducía en un aumento de la presión arterial sistólica y en una disminución de la diastólica.
- ✓ Aumentaba el volumen minuto cardíaco, lo que significa un mayor trabajo para el miocardio.
- ✓ Este aumento del trabajo cardíaco explicaba que, en los sujetos con una disminución de la reserva miocárdica, la hipoglucemia pudiera conducir al desarrollo tanto de signos como de síntomas de insuficiencia miocárdica.

También explicaba la aparición de ataques de angina de pecho en ciertos individuos durante la misma.

Es curioso cómo, habiendo señalado todo lo anterior al principio de los años treinta, pareciera que el mundo médico hubiera padecido una amnesia durante las décadas finales del siglo XX, donde apenas se le daba importancia a la presencia de una disminución de la glucemia.

Por otra parte constatar que, inicialmente, la insulina se presentaba en distintas concentraciones. Así los laboratorios Connaught en Canadá vendían viales de 10 ml de 10, 20, 40 y 80 U por mililitro. La unidad de insulina se redefinió a mediados de los años veinte por el *Permanent Standards Committee of the Health Section of the League of Nations* como el equivalente al efecto de un octavo de miligramo de la preparación seca de hidrocloreto de insulina. O sea, que había 8 U por cada miligramo o que cada unidad eran 0,125 mg, lo que es lo mismo. Este valor de la unidad, como veremos, se irá cambiando con el tiempo, a medida que se logra una mayor pureza del extracto. El efecto de esta insulina duraba entre seis y ocho horas. Su origen era preferentemente bovino, pero también la había procedente del ganado porcino. Eso sí, por aquellos años su grado de pureza no era el más idóneo (League of Nations Health Organisation, 1925).

Es evidente que, como bien escaso, se tenían que acotar sus indicaciones. Durante los primeros años éstas eran la acidosis, los comas, las infecciones, los preoperatorios y los casos que no respondían a la dieta baja en carbohidratos (Medical Research Council, 1923; Campbell, 1930).

Esta insulina original tenía el inconveniente de actuar un máximo de ocho horas (figura 14). Si bien el pico de acción a los 30 minutos la hacía ideal para el tratamiento de los comas y el empleo previo a la cirugía, su corta duración obligaba a utilizar 3 o 4 inyecciones diarias en un diabético grave (De Oya, 1940). Además, se observaba que, en ocasiones, el descenso rápido de la glucemia se seguía de unas hiperglucemias superiores a los valores de partida, como consecuencia de haber sido excitados violentamente los mecanismos de contrarregulación. Se sospechaba que era muy probable que, estas variaciones bruscas sobre la glucemia, facilitarían los procesos degenerativos de los diabéticos (Rodríguez-Miñón, 1943).

Curiosamente, pese a ser tantas las industrias implicadas en su elaboración, no fue hasta 1928 cuando se supo que la insulina era una proteína (Gualandi-Signorini y Giorgi, 2001). Posteriormente, se sabía que la molécula de insulina contiene seis residuos de aminoácidos que pueden llevar una carga positiva y 10 que pueden

llevar una carga negativa. La carga neta es cero a pH de 5,5 (Brange, 1987). La solubilidad de la insulina depende del pH del disolvente, siendo prácticamente insoluble en agua a un pH 5,4, pero fácilmente soluble a un pH menor de 4,0. En medios alcalinos, la solubilidad depende de la concentración de los iones de zinc y de la especie de origen de la insulina (Schlichtkrull, 1958).

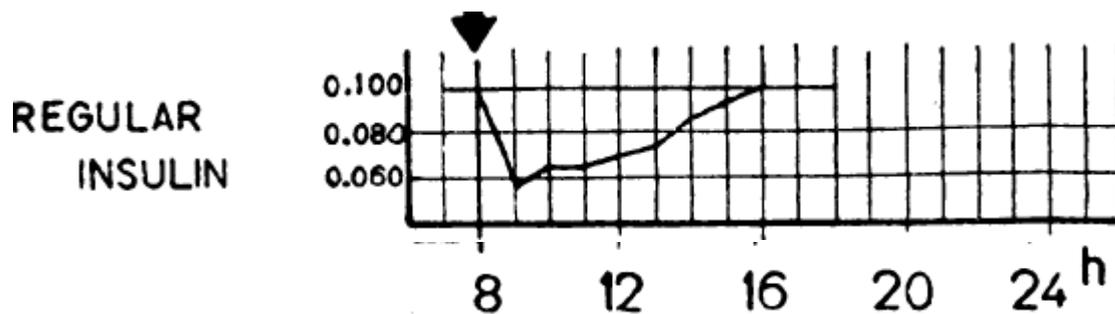


Figura 14: Efecto de la insulina regular (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos. Pico a la hora y cese de acción a las 8 horas (Gerritzen, 1952).

La fabricación de la insulina supuso desde el principio la necesidad de una cooperación continua de la industria cárnica, para la cuidadosa recolección y manipulación de las glándulas, con la farmacéutica. El fin era tener un suministro asegurado de unas preparaciones de insulina de alta calidad. Además, se logró una disminución de los costes del producto final, que en 1955 tenía un 75 % del precio de 1938 (Fisher, 1955). En los mataderos se procuraba recoger los páncreas de los animales más jóvenes, ya que se vio que mientras el páncreas de un feto de ternera tiene 35 U por gramo esta cantidad baja a 10 U a las 8 semanas de vida y a 2 U a los 9 años (Velázquez, 1953).

El gran logro de la insulina es que cambió por completo la expectativa de vida del diabético, de una forma más contundente a más joven fuera. Así, comparando el periodo de 1897 a 1914 con el de 1926 a 1929 ésta aumentó de la siguiente forma (Joslin, 1936):

- ✓ Niños de 10 años de edad: de 1,5 a 31,7 años.
- ✓ Adultos de 30 años: de 4,2 a 22,7 años.
- ✓ Adultos de 50 años: de 8,1 a 13,2 años.

En conjunto la edad media de la muerte en los diabéticos pasó de los 46,7 años en 1922 a los 60 años en 1929 (Joslin, 1947). Además mejoraban considerablemente las condiciones de vida al final de ésta. Previo a la insulina la muerte del diabético era generalmente por lo que se llamaba el marasmo diabético, que consistía en un severo distrés respiratorio junto a una alteración general de las funciones corporales, que se acompañaba de una caquexia extrema. Todo ello generalmente unido a una tuberculosis o a una neumonía, a una infinidad de forúnculos y ántrax, a la presencia de gangrena en uno o varios miembros y a las secuelas de una apoplejía (Peumery, 1993).

Por otra parte, la existencia de la insulina cambió totalmente la dieta del diabético. Partiendo de una hipocalórica sin apenas hidratos de carbono a prácticamente una dieta libre, rica en los mismos, con la que se observaba una gran mejoría del estado general y unas menores necesidades de insulina en muchos de ellos (Don, 1932). Probablemente dicha disminución de la dosis de insulina se debía a una menor glucotoxicidad por el efecto del fármaco y no a la dieta, aunque ese concepto no se conocería hasta la década siguiente (Haist *et al.*, 1940) y no se la denominaría como tal hasta 1987 por Rossetti *et al.*

También de una forma temprana se dedujo que en el diabético debían de tener un papel patogénico otras hormonas contrainsulares. Así, mientras en un sujeto pancreatectomizado las unidades de insulina necesarias en un día estaban en torno a las 50, en muchos diabéticos la cantidad necesaria para su tratamiento superaba ampliamente esta cifra (Goldner and Clark, 1944). Aún no se hablaba de la resistencia a la insulina.

6.3.2. INSULINA CRISTALINA O SOLUBLE

En 1926 **John Jacob Abel** logra cristalizar la insulina amorfa. Esto le añade estabilidad. La comunidad científica estadounidense no le creyó en años (Murnaghan y Talalay, 1967; Pérez, 2014). El autor lo logró añadiendo ácido acético y piridina, con lo que lograba que se formaran los cristales (figura 15). También llegó a la conclusión de que era imprescindible la presencia del azufre en la molécula de la insulina, intuyendo así sus puentes disulfuro, pues observó que, cuanto mayor era la cantidad de azufre lábil en una preparación de insulina, mayor era su potencia a la hora de disminuir el porcentaje de azúcar en la sangre. Además comprobó que el método habitual de la precipitación isoeléctrica no era válido para cristalizar la hormona.

Concretamente el método que empleó para lograr la cristalización era el siguiente. Primero precipitaba las impurezas con ácido acético y brucina, quedando la insulina flotando en el sobrenadante. Éste se centrifugaba y se precipitaba con piridina 1/6 normal. Luego lo volvía a centrifugar, observando entonces que los lados del tubo estaban recubiertos con unos cristales brillantes altamente refractivos. Finalmente se liberaban éstos de la piridina y del ácido acético lavándolos varias veces con agua destilada a temperatura ambiente, en la que la insulina cristalina pura es bastante insoluble, logrando así los cristales de sólo insulina (figura 15)(Abel, 1926).

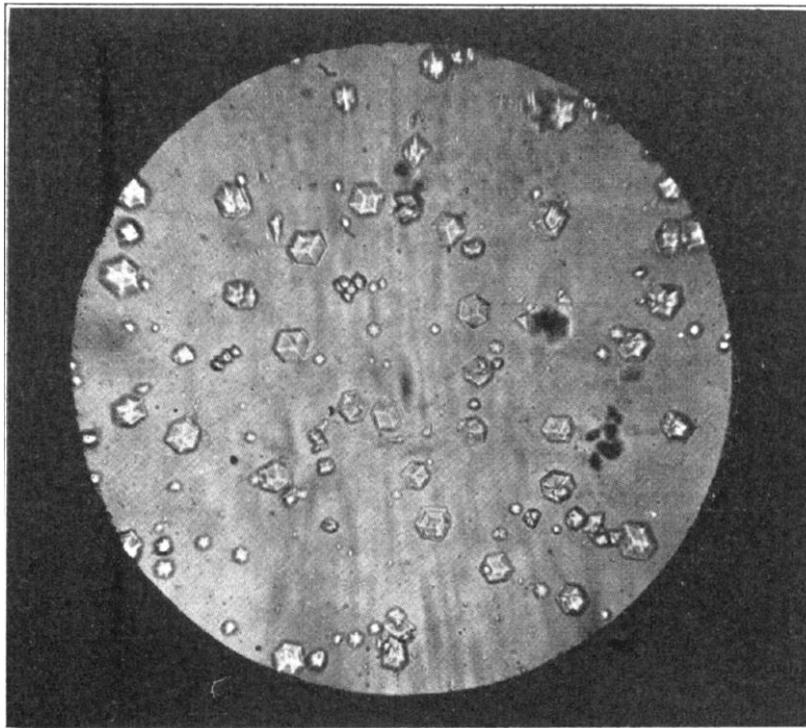


Figura 15: Cristal de insulina obtenido por el Dr. Abel con ácido acético y piridina (Abel, 1926).

El método usado inicialmente por el profesor Abel consumía mucho tiempo y no producía unos cristales consistentes. El **Dr. Scott**, de Connaught Medical Research Laboratories de Canadá, demostró que una condición necesaria para la producción de los cristales de insulina era que estuviera presente una pequeña cantidad de uno o más metales. Era posible preparar cristales de insulina que contuvieran níquel, cobalto o cadmio. Pero el zinc, que es un metal que se encuentra en el páncreas en cantidades relativamente grandes, fue el utilizado en la preparación de los cristales de insulina. El resultado de esta observación desembocó en la forma de fabricar los cristales de insulina de zinc en los laboratorios de todo el mundo durante años. La insulina cristalina pasó a ser la base para la producción del resto de las insulinas (Fisher, 1955). Realmente añadir el zinc resultó tan simple como hacer reaccionar la

antigua insulina amorfa con cloruro de zinc (Litter, 1980). Lo que se lograba era que se formaran hexámeros de insulina, combinados por los grupos carboxilo, alrededor de dos átomos de zinc (Litter, 1980).

Este binomio entre el zinc y la insulina, surgido del trabajo del Dr. Scott, ha sido de tal entidad que prácticamente todas las insulinas desarrolladas a partir de ese momento lo empleaban. En unos casos sería para aumentar su duración, en otros para lograr una mayor estabilidad. Tanto es así que ha llegado hasta nuestros días donde todos los análogos sintéticos, salvo la insulina glulisina, lo llevan, al menos como excipiente. No sabemos la cantidad de este metal que va integrada en la molécula de éstos últimos pues los laboratorios no aportan datos al respecto (European Medicines Agency 2006; 2009 a, b y c; 2010; 2014; 2015 a y b; 2017; Vademecum 2017). Una vía, la del zinc, mucho más empleada que la de las proteínas, de la que luego hablaremos. Esta última pasó de ser habitual en las insulinas a quedar posteriormente relegada a un segundo plano (tabla 2).

Tabla 2. Zinc y proteínas en las distintas insulinas y análogos.

INSULINAS	Proteínas	Zinc (mg/100 U)	
Regular (cristalina)	No	0,020	
Histona zinc	Histona	0,200	
Globina zinc	Globina	0,300	
Protamina zinc	Protamina	0,200	
Isófana (NPH)	Protamina	0,030	
Semilente	No	0,200	
Lente	No	0,200	
Ultralente	No	0,200	
ANÁLOGOS			
Lispro U-100	No	0,020	
Lispro U-200	No	0.046	
Aspart	No	0,020	
Glulisina	No	0,000	No
Aspart-Protamina	Protamina	0,020	
Lispro-Protamina	Protamina	0,025	
Detemir	No	0,066	
Glargina U-100	No	0,030	
Glargina U-300	No	0,060	
Degludec	No	0,033	

Volviendo a la insulina cristalina añadir que se observó que su efecto era ligeramente más tardío, algo menos intenso en su pico de acción y más prolongado que el de la insulina regular amorfa (figura 16) (Marble y Vartiainen, 1939). También, al llevar menos proteínas extrañas, producía menos reacciones alérgicas (Ortega Núñez, 1953). Finalmente la insulina cristalina se puso en el mercado en Europa en 1936 (Revel, 1940) por la alemana Hoechst (Sanofy, 2017) y en Canadá por Connaught. No obstante, esa falta de credulidad en los estudios de Abel que ya se ha mencionado, basada en que los “popes” de la fisiología estadounidenses de entonces, especialmente el Dr. Allen, dudaban en que se pudieran cristalizar este tipo de moléculas, hizo que esta insulina no estuviera disponible en los Estados Unidos hasta 1950 (Sönksen, 1977). Sin embargo, sus características la hacían claramente preferible frente a la insulina amorfa (Marble y Vartiainen, 1939).

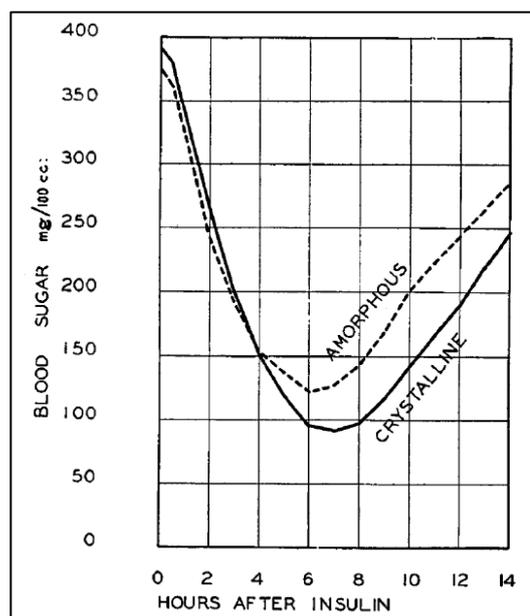


Figura 16: Perfil de la insulina cristalina frente al de la insulina amorfa (Marble y Vartiainen, 1939).

Mientras que **la insulina regular o amorfa** (la canadiense inicial) era hidrocloreto de insulina, la **insulina cristalina** se lograba, como hemos dicho, simplemente añadiéndola zinc. Ésta tenía una hora más duración de su efecto (Joslin, 1942) y contenía tan sólo 0,02 a 0,04 miligramos de zinc por cada 100 unidades (Friedlander y Shepardson, 1939). El empleo del zinc no fue fortuito. Había muchos datos que hacían sospechar una íntima relación entre este metal y la acción de la insulina. En primer lugar, el zinc está ampliamente distribuido en la naturaleza y hay razones para creer que, a diferencia del plomo, su aparición en los materiales biológicos no es, en muchos casos, accidental sino útil. De especial interés, en el caso de la

diabetes, es el hecho de que, a pesar de que se ha encontrado zinc en casi todos los tejidos de animales, existen cantidades particularmente grandes en el páncreas (Rabinowitch *et al.*, 1936b). Además, el zinc es un componente de la insulina, independientemente del método de preparación de ésta. No es una impureza, sino que está unido químicamente a la molécula (Scott, 1934).

Esta insulina cristalina se preparaba también a partir del páncreas, generalmente de bóvidos y cerdos. Las glándulas se recogían en los mataderos. Allí se recortaban para eliminar el exceso de grasa y de otros tejidos, congelándose rápidamente para su almacenamiento. En las farmacéuticas inicialmente se trituraban y el principio activo se extraía usando una solución alcohólica. Posteriormente, el alcohol se separaba por medio de una destilación al vacío a temperatura ambiente (si se usaba calor se producía una inactivación de la insulina). Después de separar la grasa del concentrado sin alcohol, la fracción activa se precipitaba por adición de cloruro de sodio. En esta etapa, la fracción que contiene la insulina flota como una capa delgada y sólida sobre la solución salina acuosa. Este precipitado se eliminaba y se purificaba por precipitación fraccionada con alcohol y por precipitación de la insulina, ajustando la acidez al punto isoeléctrico (aproximadamente un pH de 5,3). La purificación adicional se conseguía mediante la preparación de la insulina en su forma cristalina por medio del zinc, como ya se ha indicado (Rabinowitch *et al.*, 1936b). Este material cristalino, denominado por Scott como "insulina de zinc", fue el que pusieron en el mercado los canadienses en 1936. Como ya se sabía con anterioridad, otros metales también se podían usar en la preparación de los cristales. Todos ellos se combinaban con la insulina en unas cantidades proporcionales a su peso atómico. Esto se deducía de haber comprobado que el contenido promedio en las cenizas del metal de cada sal de insulina era proporcional al mismo. Esto indicaba que los cristales contenían los metales como constituyentes combinados químicamente y no como simples impurezas (Best, 1937).

La insulina, como cristales de zinc-insulina, era una preparación blanca que contiene aproximadamente 24 Unidades internacionales (unidades USP) de insulina por mg. En esta forma el producto era estable y podía almacenarse durante un período de varios años. El material contenía zinc en una proporción media de 0,03 mg de zinc por 100 unidades de insulina, con un margen de 0,02 a 0,04. Como agente isotónico llevaba glicerina y como conservante fenol o cresol. Su pH era de 3,0 y no se le añadía buffer (Fisher, 1955). Con el paso de los años, al lograrse las insulinas ultrapurificadas, se pudo modificar dicha acidez y se logró llevar su pH a 7,2. Se la denominó entonces **insulina neutra** (Litter, 1980). Muchos autores también la

denominan con el nombre de **insulina regular**, dando lugar a confundirla con la **insulina amorfa**.

Esta **insulina cristalina**, a la que posteriormente se le denominó **insulina soluble**, con su acción rápida, ha seguido siendo muy útil al pasar de los años para su uso en las emergencias, como la cetosis diabética, y para aquellas condiciones en las que los requerimientos de insulina cambian rápidamente de una forma impredecible, lo que ocurre, por ejemplo, en la presencia de una infección aguda o después de una cirugía. Era un preparado de aspecto claro y transparente, adecuado para su administración subcutánea, intramuscular o intravenosa (Goth, 1975). No obstante, como tratamiento único de la diabetes siempre presentaba el problema de la necesidad de dos y, a menudo, tres inyecciones diarias (Nabarro y Stowers, 1955). Además, otra de las consecuencias del tratamiento irregular con las insulinas de acción corta era el **síndrome de Mauriac**. Ocurría en niños y adolescentes con un mal control glucémico. Se caracterizaba por una baja estatura, una hepatomegalia, a menudo masiva, un dolor abdominal que, a veces, se acompañada de una esplenomegalia y de un vientre protuberante. Este síndrome se volvió muy raro después de la introducción de las insulinas de acción más prolongada, pero a veces aún se observaba años después en aquellos con una ingesta alta de carbohidratos y una irregularidad en la administración de su insulina (Marble *et al.*, 1938; White *et al.*, 1938). Todo esto llevó al descenso, relativamente rápido, del peso de la insulina cristalina en el tratamiento de la diabetes en favor de las insulinas de acción larga, suponiendo tan sólo un 25 % de las unidades prescritas en la primera mitad de la década de los años cincuenta (Fisher, 1955).

No obstante, pese a todo había que tener en cuenta que ni la insulina ordinaria ni la cristalizada representaban la hormona original de los islotes del Langerhans. Realmente se trataba de unos productos fruto de la hidrólisis de la misma, provocada por los procesos químicos empleados para su obtención (Calvet *et al.*, 1941).

La aparición de la insulina cristalina desplazó por completo a la insulina amorfa (Litter, 1980) e hizo que se fijara un nuevo estándar. Se prepararon por el Dr. Scott cincuenta gramos de cristales en los Laboratorios Connaught y se presentaron a la Organización de la Salud de la Sociedad de Naciones por el Comité de Insulina de la Universidad de Toronto. La potencia del nuevo estándar se comparó con la de la antigua preparación amorfa en varios laboratorios. Los resultados fueron estudiados por varios representantes del Instituto Nacional de Investigación Médica del Reino Unido, de la Universidad de Copenhague y de la Universidad de Toronto

(representados por Sir Henry Dale, el profesor August Krogh y el profesor Charles Best). Se recomendó adoptar un valor de 22 unidades por mg como nueva norma. Se pensó que esto no cambiaría la potencia de la unidad. Esta recomendación fue aceptada por la Organización de Salud de la Sociedad de Naciones (1936). Por lo tanto, la unidad de insulina se definiría desde entonces como la actividad contenida en 1/22 de un mg. (0,0455 mg) de la nueva Norma Internacional (Best, 1937).

Sin embargo mientras la insulina "regular" o amorfa producía solo esas 22 unidades por miligramo los productos cristalinos purificados producían habitualmente 26 unidades. Esto se debía a que la insulina amorfa contenía del 10 al 20 por ciento de proteína inerte no contenida en la insulina cristalina (Cowell e Izzo, 1943).

6.3.3. INSULINA ORAL Y OTRAS VÍAS NO INYECTABLES

Ya desde el principio se buscó la posibilidad de emplear las vías oral, rectal, vaginal e intranasal. Los resultados fueron negativos, bien por la falta de absorción, bien porque ésta se producía pero era muy errática (Woodyatt, 1922).

Como es lógico, lo primero que se intentó fue la administración oral. Se probó con insulina vehiculada en alcohol, con unos resultados desastrosos. Por una parte, la administración era de, al menos, el doble de unidades de las necesarias por vía parenteral, lo que aumentaba el precio considerablemente. Por otra, la absorción era errática, incluso nula, y la presencia del alcohol y del ácido clorhídrico asociados daba una cantidad ingente de efectos secundarios (Harrison, 1923). Otros investigadores, pese a obtener buenos resultados en conejos con la dilución alcohólica, tampoco lograron una aplicación clínica en los humanos (Winter, 1923). Aliller, en 1926, informó que la insulina administrada en alcohol al 95 % e introducida en cápsulas queratinizadas bajaba el azúcar en la sangre de los pacientes diabéticos. Por su parte Stephan, en 1929, también describió la reducción de la glucemia después de la administración de la insulina por vía oral. Estos resultados, usando la misma técnica, no fueron confirmados por Wahncau y Bertram, ni por Bertram, Horwitz y Wahncau (Major, 1935). Más tarde se intentaría precipitándola previamente con ácido fosfotúngstico, con los mismos resultados desfavorables (Martini, 1931). Otros investigadores siguieron realizando estudios de la utilidad de la vía oral, como Murlin que, en 1940, lo intentó vehiculando 100 U de insulina pura en una solución que contenía un 0,125 por ciento de hexilresorcinol además de los álcalis necesarios para obtener un pH entre 10 y 10,5. La equivalencia con la insulina subcutánea variaba de 2 a 22 U, un gasto totalmente inaceptable (Murlin *et al.*,

1940). Curiosamente esta es la misma razón por la que Novo-Nordisk anunciaba que abandonaba la vía de la insulina oral en el año 2016. Aunque se había logrado su absorción, ésta siempre era en una pequeña proporción, necesitando una gran cantidad de insulina para lograr un efecto clínico, no siendo asumible el coste ni por parte de los pacientes ni por los Servicios de Salud (Thomsen, 2017).

También, prácticamente desde el inicio de su implantación en la clínica, se intentó encontrar sustitutos de la insulina que fueran de administración oral. Collip, el colaborador de Banting, lo intentó con un extracto de plantas, denominando al resultado obtenido "glukoquinin". El Dr. Allen, en New Jersey, lo hizo con los arándanos. Ambos lograron un nulo resultado en humanos. En 1926, E. Frank y sus colaboradores, en Breslau, desarrollaron el Synthalin a partir de la lila francesa. Habían obtenido la primera biguanida (contiene dos guanidinas) pero, por desgracia, tenía frecuentemente complicaciones hepáticas (Cameron, 1928). Habían comenzado una nueva vía de tratamiento que desembocaría en la metformina, el fármaco más usado hoy en día en el campo de la diabetes.

Por su parte, Telfer, en 1923, observó que en los conejos la insulina podría ser introducida en el torrente sanguíneo por medio de su aplicación en un ungüento con una base de lanolina o de manteca de cerdo. El problema era que también se debían aplicar unas cantidades excesivamente altas (Telfer, 1923), lo mismo que por vía oral. Sin embargo Harrison, en 1926, encontró que la aplicación en ungüento de la insulina era totalmente inútil, incluso en dosis muy grandes.

También se probó con otras vías meramente anecdóticas. Así Fisher, en 1923, encontró una cierta absorción por el intestino, la vagina y el saco escrotal. Peskind, Rogoff y Stewart, en 1924, encontraron que la insulina, cuando se administraba a los conejos por vía rectal, era absorbida y disminuía la glucemia. No obstante, esto no era así en los perros. Nada de esto tuvo aplicación práctica.

Algo diferente en cierta medida ocurrió con el aparato respiratorio. Heubner, de Jongh y Laquer, en 1924, describieron la disminución del azúcar en la sangre de los diabéticos por la inhalación de la insulina. Igualmente Gansslen, en 1925, describió la disminución de la glucemia de los diabéticos por la inhalación de un spray de insulina. Posteriormente se trabajó con la insulina vehiculada en etilenglicol y en trimetilenglicol pero instilada o rociada en la mucosa nasal. De esta forma producía una disminución incuestionable y marcada del azúcar, pero nunca por debajo del valor de 140 mg/dl. El tratamiento resultaba demasiado costoso para ser práctico. Además se constató la existencia de grandes variaciones en la absorción individual de cada paciente. Al final se llegó a la conclusión de que esta vía sólo tenía un interés

meramente académico (Major, 1935). Con el tiempo se intentó reincidir en la absorción pulmonar, llegando a estar en el mercado dos insulinas inhaladas y absorbidas por vía pulmonar, Exubera® y Afrezza®. La primera se retiró a los pocos meses. Inicialmente la razón era sus malas ventas, aunque es verdad que aparecieron un aumento preocupante de cánceres de pulmón en un demasiado corto espacio de tiempo (Heinemann, 2008). La segunda ha sido abandonada por la farmacéutica Sanofy-Aventis por sus malas ventas (Hirschler, 2016).

Con todos los datos disponibles el Dr. Best, codescubridor de la insulina, dijo en un artículo en 1937: *“Con todo ello pronto se supo que la insulina era destruida por las enzimas del estómago y del intestino delgado. Tampoco había una absorción apreciable en el intestino grueso, lo que dejaba la vía rectal fuera de uso. La situación con respecto a la absorción por parte de otras membranas mucosas no era mucho más prometedora. Se podía observar un efecto antidiabético cuando se inhalaba una solución de insulina, pero no se obtuvieron unos resultados con un verdadero valor práctico. Por lo tanto, era evidente que se partía de la necesidad de usar una serie de preparados inyectables, pues la vía oral inactiva la insulina, la inhalación logra un cierto nivel de absorción pero es impredecible y por la vía transdérmica la cantidad que se logra absorber cuando se vehicula en lanolina y se aplica masajeador vigorosamente es mínima”* (Best, 1937). Parece mentira cómo 80 años después dicha aseveración sigue totalmente vigente.

6.3.4. INSULINA CON LECITINA Y OTROS LÍPIDOS

Uno de los primeros pasos que se dieron para intentar aumentar la duración del tiempo de acción de la insulina fue unirla a lípidos. Uno de los primeros empleados fue la lecitina. Con ella se obtenían unos preparados que producían mucho dolor en el lugar de la inyección y que, además, eran en exceso inestables, lo que conllevaba a una acción inconstante (Suranyi y Szalai, 1923). También se intentó con colesterol, metacolesterol y algunos derivados del petróleo pero sin resultados (Colwell *et al.*, 1942). Aunque fallidos, fueron los primeros pasos dados en este sentido. Curiosamente dos de los análogos empleados hoy en día, la insulina detemir y la degludec, llevan lípidos ligados a la insulina, en concreto ácidos grasos (European Medicines Agency, 2017a y b) indicando que la vía que emplea este tipo de sustancias no estaba tan equivocada. No obstante, los actuales los llevan unidos por enlaces moleculares a la insulina y no simplemente añadidos a la misma.

6.3.5. INSULINA UNIDA A GRANDES CANTIDADES DE PROTEÍNAS

Se buscaba, como se ha dicho, prolongar el tiempo de acción. Inicialmente era un conglomerado amorfo de proteínas, que cada investigador hacía según su criterio. Tan sólo se logró un discreto retardo unido a un aumento totalmente inasumible de los efectos secundarios (De Jongh y Laqueur, 1925). Más tarde se vería que esa era una de las vías para aumentar el tiempo de acción de la insulina, pero había que ser más preciso a la hora de elegir la proteína y su cantidad.

6.3.6. INSULINA VEHICULADA EN UNA SOLUCIÓN AL 20 % DE GOMA ARÁBIGA

La goma arábica es un polisacárido, de origen natural, que se extrae de la resina de ciertas variedades de la acacia. Hoy en día se emplea sobre todo en caramelos, en algunos vinos y en pegamentos. La idea partía de su empleo como estabilizante dentro de otros procesos químicos. Burgess *et al.*, en 1923, lo intentaron pero aunque se toleraban más unidades de insulina y había menos hipoglucemias no lo hacía de una forma predecible.

6.3.7. INSULINA UNIDA A METALES (COBALTO, NÍQUEL Y HIERRO)

Al parecer, el primer intento de modificar la acción de la insulina por el uso de metales fue el de Bertrand y Macheboeuf (1926). Estos investigadores encontraron un aumento del tiempo de acción de la insulina cuando agregaban cobalto o níquel a las soluciones de la insulina. Este trabajo condujo al desarrollo de una gran controversia en cuanto a los posibles efectos secundarios, lo que hizo que no se desarrollara esta vía durante algún tiempo. Pero no se debe de olvidar que estos investigadores fueron los primeros en sugerir el uso de un metal en este sentido. Aún faltaban unos años para que entrara en escena el zinc. Posteriormente Maxwell y Bischoff (1935) publicarían sus resultados con el cloruro férrico básico, que ralentizaba en cierta medida la absorción de insulina (Best, 1937).

6.3.8. INSULINA UNIDA A ACEITE DE ARACHIS (CACAHUETE)

El aceite de Arachis, género de leguminosas que incluye al cacahuete, lograba mantener en suspensión unas 60 unidades por centímetro cúbico. Por desgracia un cierto porcentaje de los pacientes se quejaba de un dolor intenso después de su inyección lo que hizo que fuera descartado (Leyton, 1929).

6.3.9. INSULINA UNIDA A ACEITE DE RICINA

Este aceite puede mantener en suspensión más de 100 unidades por centímetro cúbico y no produce dolor al ser inyectado. No obstante, era evidente que el método de inyección tenía que ser diferente para un aceite viscoso que el empleado con las soluciones acuosas habituales. Así, el aceite debía calentarse antes de la inyección para reducir su viscosidad. Igualmente, se debía emplear una aguja gruesa para extraer la suspensión hacia la jeringuilla. Para la inyección se tenía que usar una aguja menos fina y más corta que la utilizada para las soluciones acuosas. Incluso se podía llegar a necesitar una jeringa con un tornillo acoplado si los músculos de la mano de la persona que realizaba su administración no tenían la suficiente fuerza para impulsar el émbolo. Por último, pero no lo menos importante, la administración no podía ser intramuscular, sino siempre subcutánea. La experiencia demostraba que la inyección bajo la piel del abdomen producía menos molestias. Además, había que administrarla antes de que el paciente se levantara por la mañana. Tenían que dejar pasar al menos una hora hasta el desayuno para que así coincidiera su acción con las ingestas. El gran problema, que finalmente dio al traste con ella, era que tenía una absorción excesivamente irregular, con unas grandes variabilidades entre los distintos pacientes, tanto en su comienzo de acción como en su duración que, además, era diferente en función de la concentración de la insulina en el aceite. Finalmente no tuvo ninguna repercusión en la clínica (Leyton, 1929).

6.3.10. INSULINA AÑADIDA A LYPINSEL®

Umber, en 1931, trabajó con él, pero era en exceso espeso, de difícil dosificación y de una acción muy irregular (De Oya, 1940). Al final esta grasa ha quedado sólo para su uso en las pomadas de cosmética.

6.3.11. FÁRMACOS PARA DISMINUIR LA CANTIDAD DE INSULINA NECESARIA: EL PIRAMIDÓN®

Una vía alternativa a modificar la insulina era añadir otros fármacos que, usándolos concomitantemente, disminuyeran las necesidades y aumentaran su tiempo de acción. Uno de los que dio un resultado positivo fue el Piramidón®. Era una pirazolona, concretamente la aminophenazona, que se empleaba para bajar la fiebre y la inflamación desde hacía años. Fabricada por los laboratorios Hoechst en Alemania fue uno de los precursores de la dipirona, más conocida hoy por su nombre comercial, el Nolotil®. Se comprobó que la ingesta diaria de 200 a 300 mg de este fármaco disminuía las necesidades insulínicas en los pacientes con una diabetes que no fuera grave (Marx and Krause, 1933). Sin embargo, esta indicación no se popularizó, debido probablemente a sus efectos digestivos y al riesgo de la aparición de una anemia aplásica (Velázquez, 1953). Finalmente este fármaco lo retiró el Gobierno Alemán el 31 de marzo de 1977 por el alto riesgo de inducir una carcinogénesis.

6.3.12. INSULINA ASOCIADA A VASOCONSTRICTORES

Como se hace con otros fármacos, por ejemplo los anestésicos locales, se partía de la base que una afluencia de sangre más lenta a la zona prolongaría el efecto de la insulina. Pero los efectos secundarios que se encontraron eran inasumibles (Wermer y Monguio, 1933). Además, la combinación con adrenalina, que se hacía a 1:50.000, tenía la particularidad de producir una hiperglucemia por su efecto *per se* sobre el metabolismo hidrocarbonado. Finalmente se observó que a la vasoconstricción inicial le seguía una vasodilatación de rebote. Entonces se producía una absorción muy rápida de la insulina que quedaba en la zona de inyección. Pese a todo en 1935 Novo la puso en el mercado, pero la tuvo que retirar rápidamente (Novo Nordisk A/S, 2011).

6.3.13. INSULINA CRISTALINA ZINC

El hecho de enfocar la insulina hacia su unión con el zinc, como hemos indicado previamente, se basaba en que el páncreas bovino contiene aproximadamente 20 mg de zinc por kilo de tejido fresco, independientemente de la edad del animal. Sin embargo, otros metales con los que se había intentado ligar a la molécula de

insulina, como el cobalto y el níquel, no se detectan en esta glándula (Fisher y Scott, 1935).

Evidentemente, un problema a priori era valorar el efecto que podía producir el zinc sobre el cuerpo humano, más cuando se iba a emplear a dosis mayores a las habituales. Primeramente, había razones para creer que el zinc inyectado se excretaba fácilmente tanto por las heces como por la orina. Lo mismo ocurría después de la ingestión de grandes cantidades del metal (Heller and Burke, 1927). En segundo lugar, tampoco se acumulaba en cantidades apreciables en la sangre de los trabajadores que habían estado expuestos a sus humos durante muchos años y no presentaban enfermedades agudas o crónicas atribuibles al metal (Drinker *et al.*, 1926). Por último, observando a tres generaciones de animales a los que se había añadido suplementos de zinc a las raciones normales se llegó a la conclusión de que no había ningún efecto perjudicial sobre el crecimiento, la reproducción y la funcionalidad normal de su organismo (Heller and Burke, 1927). Todo ello dio luz verde al trabajo con este metal en el campo de la insulina.

Se pudo comprobar que los cristales de la “insulina de zinc” mostraban las reacciones de una verdadera proteína, representando probablemente a la hormona real. Se constató que con un contenido de zinc de hasta un miligramo por cada 1.000 unidades, que era aproximadamente lo que llevaba la insulina cristalina, no se lograba apenas prolongar su tiempo de acción. Dicha concentración tan sólo lograba una mayor estabilidad de la solución (Friedlander y Shepardson, 1939). Para aumentar dicha acción de la insulina cristalina se necesitaban cantidades de 0,8 a 0,9 miligramos de zinc por cada 100 unidades. Esto era así por una mayor insolubilidad en el lado alcalino de su punto isoeléctrico. Como consecuencia, la acción hipoglucémica prolongada se debía tanto a un retraso en la absorción como a una eventual utilización retardada de la insulina, inyectada a un pH de 3,0, por el cuerpo durante sus cambios desde un pH ácido a un pH ligeramente alcalino de los fluidos tisulares. Con ello se lograba una duración de su acción de, al menos, de doce a catorce horas (Gerritzen, 1953). Esto resultaba más fisiológico que la acción hipoglucémica prolongada de la insulina protamina, que se desarrollaría con posterioridad, en la que era indeseable su tendencia a una acción acumulativa en ciertos pacientes. Además, la ausencia de proteínas extrañas hacía que el riesgo de una alergia se limitara a un número pequeño de individuos que pudieran ser sensibles a la propia molécula de insulina (Friedlander y Shepardson, 1939).

No se debe de confundir esta primera **insulina zinc cristalina**, que era una insulina cuya acción llamaríamos hoy en día intermedia, con la **insulina cristalina**, de acción

rápida ni con las **insulinas lente**, que vendrían más tarde. La insulina zinc cristalina lleva una cantidad del metal mucho mayor y, realmente, no tuvo apenas repercusión en la práctica clínica.

6.3.14. UNIÓN DE INSULINA A CASEOSAN, NOVOPROTIN® Y SUERO

El Novoprotin® era una proteína vegetal cristalizada que se empleaba para el ulcus gástrico. Bentrán trabajó con ella con un resultado aceptable. No obstante, se abandonó este campo hacia la búsqueda de una versión oral, desarrollando posteriormente su grupo de investigación la primera biguanida, el Synthalin, (Rodríguez-Miñón, 1943) del que ya hemos hablado.

6.3.15. LA “DURANT INSULIN®”

Obtenida al unirla a una serie de lipoides por el método patentado por Arno Grosse y Gustav Klein en 1936. Tenía un efecto de hasta tres días. Pero la parte negativa era que su administración resultaba en exceso dolorosa. Además, producía frecuentemente abscesos locales y los diabéticos se sentían físicamente muy mal con ella, sin llegarse a saber la causa de este efecto (De Oya, 1940). Todo ello hacía que fuera de un manejo muy difícil para el clínico, lo que la dejó fuera de uso (Umber *et al.*, 1936).

6.3.16. INSULINA IODADA

Ya en los trabajos realizados inicialmente con la insulina se demostró que el yodo, en solución acuosa diluida en el rango de pH de 6,8 a 8,0, provocaba la inactivación irreversible de la insulina (Blatherwick *et al.* 1927). Esta inactivación se atribuyó posteriormente a la oxidación de los grupos disulfuro (Jensen *et al.*, 1932). A mayores se observó que la insulina yodada retenía sólo del 5 al 10% de la actividad fisiológica de la sustancia madre, descartándola por ello su empleo (Harington y Neuberger, 1936).

6.3.17. LA INSULINA GELATINA AL 1 % Y LA INSULINA ZINC GELATINA

Al parecer la unión a la gelatina de ambas insulinas daba buenos resultados, pero no se llevaron a la práctica (De Oya, 1940).

6.3.18. LA HEXAMETILENTETRAMINA INSULINA

La unión con este antiséptico urinario parecía funcionar inicialmente, pero se abandonó (De Oya, 1940).

6.3.19. INSULINA PROTAMINA

En 1936 **Hans Christian Hagedorn, Birger Norman Jensen, Ingrid Wodstrup-Nielsen** y **Niels B. Krarup** publicaron su trabajo donde demostraban que la insulina junto a la protamina, una proteína del grupo de las histonas, aumentaba su tiempo de acción hasta casi las veinticuatro horas. Se basaban en la presunción de que cuanto mayor era su insolubilidad que le daba la protamina más útil sería en el tratamiento. El problema era que había que tamponar la solución justo antes de inyectarla, haciendo más complicada su administración (Hagedorn *et al.*, 1936). La patentaron en EE.UU. el 6 de Abril de 1937.

En 1868 **Friedrich Miescher** comenzó su investigación de la química sobre los núcleos celulares. Demostró que las proteínas de carácter ácido, que contenían ácido fosfórico, estaban presentes en ellos. Más tarde encontró estos ácidos nucleicos, en combinación con otras sustancias básicas, en el espermatozoide del salmón. Denominó a las sustancias básicas **protaminas**. Unos dieciséis años después **Kossel** detectó otro tipo de sustancias básicas en combinación con el ácido nucleico. Posteriormente se demostró que eran similares pero algo más complejas que las protaminas. Recibieron la denominación de **histonas**. También aisló una protamina en el espermatozoide del esturión, que se asemejaba, pero no era idéntica, a la base del espermatozoide del salmón. La denominación protamina se adoptó para todas estas bases, mientras que cada una por separado se nombraba con el apellido del pescado del que se obtenía. Así las protaminas contienen arginina, lisina e histidina. La Esturina también contiene alanina y leucina. La clupeína, obtenida a partir del espermatozoide de arenque, es una monoprotamina y que contiene arginina como constituyente básico junto con alanina, serina, ácido aminovalérico y prolina. La salmina es también una

monoprotamina y contiene serina, ácido aminovalérico y prolina, así como arginina. Hagedorn y sus colegas prepararon una nueva monoprotamina del esperma de *Salmo Irdeus* (salmiridina) que emplearon para su insulina protamina (Best, 1937). Esta monoprotamina se basa en la lisina (la diprotamina y la triprotamina se basaban en histidina y arginina, respectivamente) (Crosby, 1939). El empleo de esta protamina, obtenida directamente de salmón, ha permanecido inalterable hasta nuestros días, siendo este pez el origen de la que llevan las actuales NPH (laboratorios Lilly y Novo-Nordisk) y el análogo NPL (insulina Lispro Protamina, laboratorios Lilly).

Se sabía que las proteínas se combinan con estas protaminas. Los compuestos son solubles a una cierta concentración de iones hidrógeno, pero insolubles en otros. Hagedorn y sus colaboradores aprovecharon, de forma muy ingeniosa, este hecho y demostraron que el compuesto de insulina y protamina era, en ciertos casos, un agente terapéutico muy eficaz. Para ello se añadía una solución clara de protamina a la insulina. La protamina se disolvía en una solución tampón para que la concentración de iones hidrógeno de la mezcla de insulina-protamina tuviera aproximadamente un pH de 7,3. A este pH el compuesto de insulina-protamina era insoluble y formaba un precipitado floculante. Si se agitaba el vial que contenía la mezcla y se administraba la suspensión, la insulina se liberaba lentamente en los tejidos y se ejercía un efecto antidiabético prolongado (Best, 1937). El resultado era que, a las 14 horas, aún tenía un efecto hipoglucemiante (Hagedorn *et al.*, 1936). De hecho, se usó un exceso de protamina para asegurar la máxima insolubilidad. Este exceso podía variar un poco en los productos de los diferentes fabricantes. Los productos estadounidenses contenían aproximadamente el doble de la cantidad de la necesaria para la precipitación completa cuando se tampona a un pH de 7,2 a 7,3 lo que suponía de 0,75 a 1,25 mg por cien unidades de insulina (Colwell e Izzo, 1943).

Fue la primera insulina ideada por Hagedorn y se comercializó con el nombre "Retard-Leo". Pronto dejó de utilizarse porque resultaba muy engorroso tener que hacer, justo antes de su uso, la mezcla de la insulina-protamina con la solución buffer alcalina. (Rodríguez-Miñón, 1943). No obstante, no se debe dar lugar a confusiones el nombre comercial, pues lo aprovechó posteriormente Leo para "Insulin Retard-Leo NPH", que contenía insulina NPH (Roesner y Sauer, 1976).

No obstante, su aplicación clínica, con respecto al empleo de insulina regular, tenía una serie de **características** (Smith, 1936):

- ✓ Los pacientes diabéticos que estaban con insulina regular al comenzar con la insulina protamina a menudo mostraban un empeoramiento de la diabetes que podía durar de tres a cinco días. Esto es algo que posteriormente se ha constatado también con otras insulinas y con los análogos de acción prolongada.
- ✓ Usualmente se requerían de cuatro a ocho unidades más con la solución de insulina protamina que con la regular.
- ✓ Las observaciones indicaban que un intervalo de doce horas entre las inyecciones de insulina protamina daba unos resultados más satisfactorios que dar las dosis en relación con las comidas, como se hacía con la insulina rápida.
- ✓ Los pacientes presentaban una menor sensación de astenia poco después de comenzar con la insulina protamina.
- ✓ La hipoglucemia podía ser más difícil de corregir debido a la absorción continua de insulina.
- ✓ Las combinaciones de insulina con el tampón de protamina, junto con el zinc o el calcio, daban un control de la glucemia durante las veinticuatro horas más uniforme en el diabético severo de lo que había sido posible con la insulina regular.

Inicialmente se pensaba que se desintegraba rápidamente, debiéndose preparar cada 10 o 15 días. Sin embargo, se pudo comprobar que era estable durante, al menos, seis meses, incluso a temperatura ambiente. Además, incluso producía un mejor control de la diabetes si se preparaba unos días antes de su empleo (Rabinowitch et al., 1936b).

Las **indicaciones** de la insulina protamina al comercializarse eran (Joslin, 1936):

1. Una glucemia elevada en ayunas con insulina regular.
2. La necesidad de múltiples dosis de insulina regular.
3. La existencia de una sensibilidad a la insulina regular.

4. La presencia de una hepatomegalia pues se había observado su eficacia en disminuirla.
5. La presencia de una lipodistrofia dado el menor número de inyecciones necesarias y la menor acidez de la preparación.
6. Por último, podía resultar de especial utilidad en los diabéticos leves, en los pacientes con hiperlipidemia, en los casos cardiopatas en los que se debe evitar la hipoglucemia y, por la misma razón, cuando existían riesgos laborales.

También parecía de utilidad en los pacientes severos, en los jóvenes y en los llamados pacientes diabéticos inestables. En ellos las reacciones debidas a la hipoglucemia eran frecuentes cuando se empleaba insulina regular, siendo mucho menos frecuentes con la insulina protamina (Kerr *et al.*, 1936). Incluso en los "insulin-waster" (derrochadores de insulina en español) podía ser eficaz para su control una gran dosis única de insulina-protamina (Rabinowitch *et al.*, 1936a). También se constató que con ella era mucho menos frecuente el síndrome de Mauriac, anteriormente descrito (White *et al.*, 1938).

Sin embargo, el propio Hagedorn señaló que, cuando el tratamiento con insulina regular daba resultados satisfactorios, el uso de insulina protamina no tenía ningún valor especial y, de hecho, en las condiciones en las que es deseable una acción más rápida, como en el coma, es preferible el empleo de la insulina regular (Hagedorn *et al.*, 1936). Además, ya se sabía que en el tratamiento de éste es importante bajar los niveles de glucemia y restituir el equilibrio electrolítico de una forma relativamente rápida (Rof Carballo y Rodríguez-Miñón, 1942).

Por ello, sus contraindicaciones eran aquellas condiciones bajo las cuales se necesitaba la acción de la insulina de forma rápida, esto es (Rabinowitch *et al.*, 1936b):

- ✓ El coma.
- ✓ La infección
- ✓ El tratamiento preoperatorio y postoperatorio de emergencia del diabético quirúrgico.

La insulina-protamina se distribuía en dos botellas. En la más grande una estaba la preparación ordinaria de insulina U-50 y el zinc. En la más pequeña, de aproximadamente 1 ml, estaba una solución clara de protamina, junto con un tampón, en concreto fosfato de sodio. Cuando se le añadía el mililitro de esta

solución de tampón fosfato a la otra botella se formaba una suspensión lechosa con un pH igual al de la sangre. Se administraba antes del desayuno. Inicialmente la dosis era la misma que se empleaba previamente de insulina regular que se ajustaría con posterioridad (Root, 1936; Kern *et al.*, 1936).

Algunos clínicos no usaban la mezcla de insulina protamina hasta que tuviera, por lo menos, cinco días de vida pues, recién preparada, todavía existía una pequeña cantidad de insulina libre en el líquido sobrenadante. Esto, que inicialmente pudiera parecer insignificante, podía significar una cantidad apreciable con su acción rápida correspondiente. No obstante, los prospectos ponían que se usara antes de los 15 días de haber realizado la mezcla, más que nada para evitar la contaminación de la misma por su uso por parte del paciente (Rabinowitch *et al.*, 1936a).

Un problema frecuente eran las hipoglucemias matutinas por la superposición del efecto de la dosis de la noche con la de la mañana. En esos pacientes se llegaba a emplear sólo una dosis matutina (Smith and Grishaw, 1937). Sin embargo, la forma de usarla más útil era una dosis de insulina regular en la mañana y una dosis de insulina protamina en la tarde/noche (Hagedorn *et al.*, 1936).

Generalmente para controlar la diabetes con una inyección al día eran necesarias grandes dosis de la insulina protamina. Por lo tanto, se debía considerar el factor económico. Dado que con ella las reacciones hipoglucémicas eran muy poco comunes, había que encontrar otra indicación para la reducción de la dosis. La mejor era una glucemia persistentemente normal. En la práctica, cuando la orina estaba libre de azúcar de una forma habitual se consideraba que en la sangre era normal o casi, siempre que la diabetes no estuviera complicada por una condición conocida que aumentara el umbral renal de glucosa, como la nefritis crónica, la arteriosclerosis, la infección, etc. Por ello, en los pacientes sin glucosuria se reducía la dosis (Rabinowitch *et al.*, 1936a). Destacar que por aquella época el diabético sólo se podía autocontrolar por medio de la orina y con una sistemática de realización un tanto complicada (figura 17).

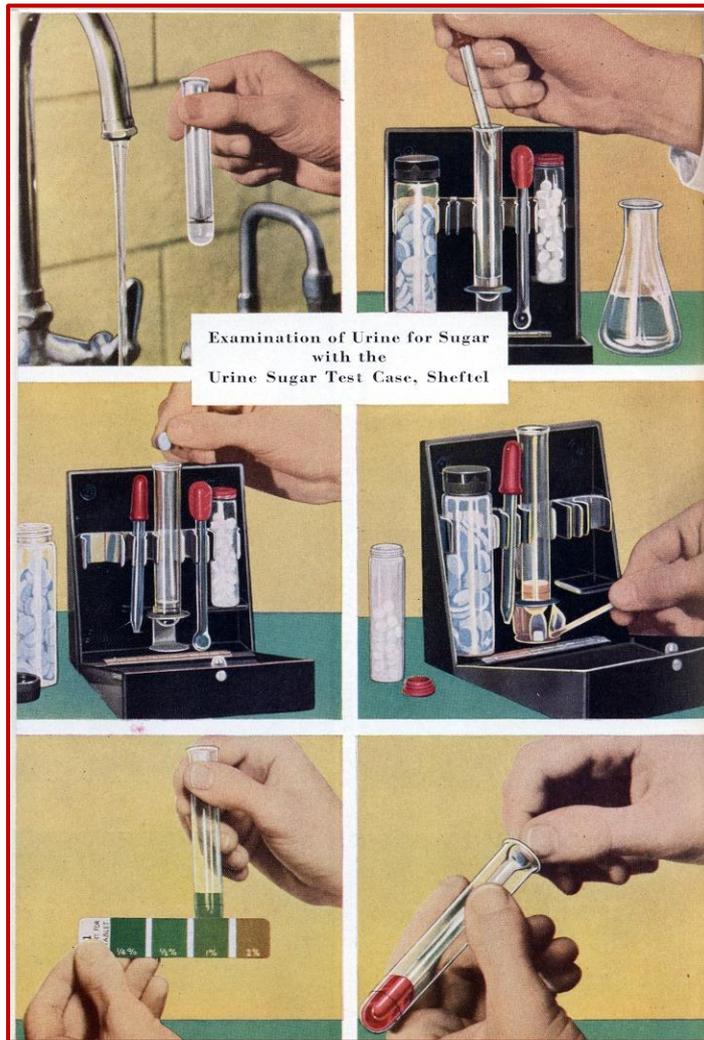


Figura 17: Procedimiento para el autocontrol de la glucosuria en los años 30-40. Obsérvese la complejidad y los subjetivo del resultado (cortesía de laboratorios Lilly).

6.3.20. EL TANATO DE INSULINA AL 0,2 % O ÁCIDO INSULÍNICO-TÁNICO-ZINC

En 1936 Bischoff demostró que la combinación de insulina con proporciones variables de ácido tánico producía su absorción tardía lo que conllevaba a un efecto hipoglucémico prolongado. Bavin y Broom lo confirmaron en 1937 y, además, demostraron que las propiedades de la mezcla eran mejoradas por la adición de zinc. En humanos se observó un efecto hipoglucémico retardado y a la vez prolongado, comparable al de la insulina protamina. La ventaja era que el ácido tánico era mucho más barato que la protamina, lo que disminuía el coste del tratamiento. El gran problema era producía muchas reacciones irritantes

generalizadas en la piel de algunos pacientes (Jenkinson and Milne, 1938). Por ello, al final, fue otra vía que se descartó (De Oya, 1940).

6.3.21. LA PROTAMINA-ZINC-INSULINA, INSULINA ZINC PROTAMINA O PZI/IPZ/IZP

6.3.21.1. PZI turbia

En 1936 los canadienses **David Alymer Scott** y **Albert Madden Fisher** formulaban una nueva mezcla de insulina zinc: la insulina protamina zinc (Scott y Fisher, 1936). La protamina la obtenían de los testículos frescos de diversos peces (sardina, salmón...) por el procedimiento desarrollado por ellos mismos (Calvet *et al.*, 1941). El zinc estabilizaba la suspensión y evitaba que se pegara al vial de vidrio, por lo que permitía su distribución como un líquido ya reconstituido en un vial. Era estable durante, al menos, seis meses. Si éste fuera el único efecto del zinc sería una contribución muy significativa. Pero ya desde el principio había razones para creer que el zinc jugaba un papel en la formación de un compuesto de insulina y protamina (Best, 1937). Estaba en el mercado en febrero de 1937 y su aspecto era turbio (Bailey y Marble, 1942).

A diferencia de la insulina protamina, que lleva 0,2 mg de zinc por cada 100 unidades de insulina en una solución ácida, la PZI además contenía un 1 ml de tampón fosfato, ajustando el pH al de la sangre (Rabinowitch *et al.*, 1936b). La adición de zinc mejoraba la estabilidad física del protaminato y retrasaba su absorción. La adición de otros metales como el cloruro de hierro o el de aluminio, cobre, níquel y cobalto también había sido probada y finalmente rechazada. Únicamente el magnesio podría haber sido una opción válida, pero el zinc presentaba mejores resultados. Con este preparado se lograba que a las 24 horas aún hubiera algo de acción hipoglucémica, aunque ésta disminuía de forma importante a partir de las 20 horas, frente a las 15 horas de la insulina protamina (Rodríguez-Miñón, 1943) (figuras 18 y 19). Su acción la realizaba en un 70 % el primer día, otro 20 % el segundo y un 10 % el tercer día, lo que había que tener en cuenta para su ajuste (Burnham, 1951). Incluso algunos autores informaron de buenos resultados administrándola cada dos días en algunos pacientes, dado su perfil de acción (McCullagh, 1938). Esta administración a días alternos también se ha estudiado con posterioridad con otras insulinas de acción larga, en concreto con el análogo degludec, aunque los resultados fueron peores que con la administración diaria, descartando esta pauta en la clínica como ya había pasado anteriormente con la PZI (Zinman *et al.*, 2013).

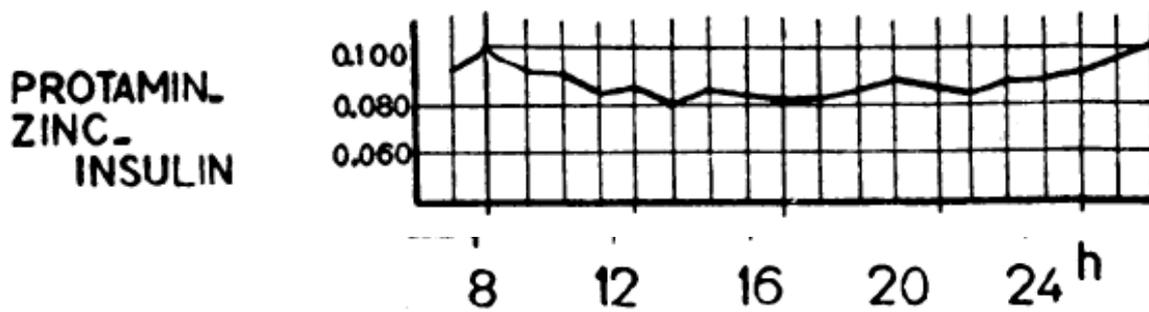


Figura 18: Efecto de la insulina protamina zinc (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos (Gerritzen, 1952).

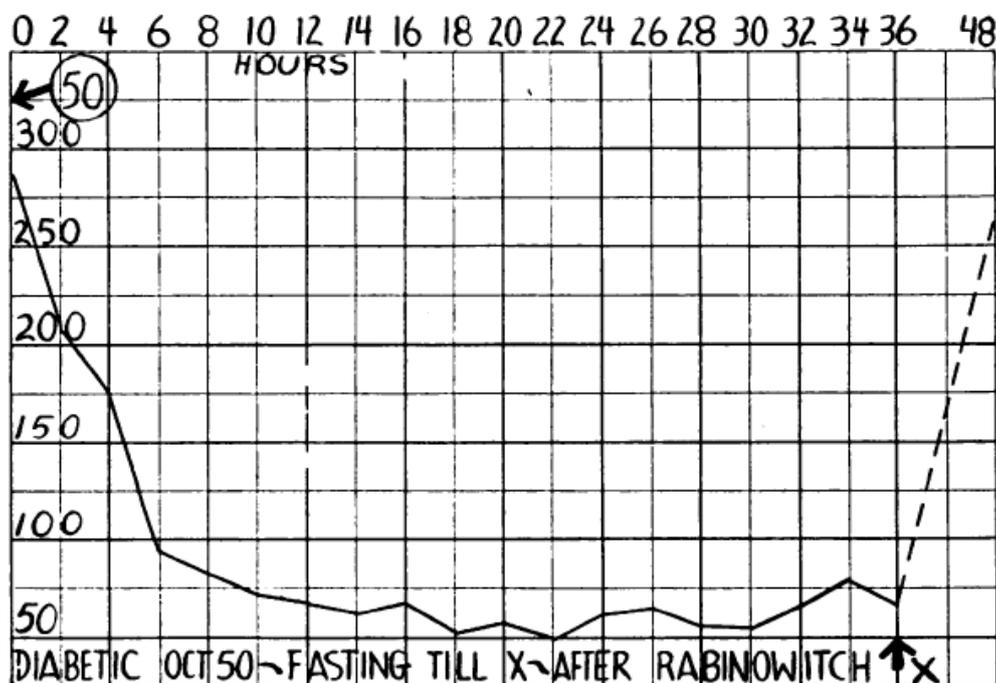


Figura 19: Acción de la insulina protamina zinc (Burnham, 1951).

Por otra parte se debía evitar mezclarla en la misma jeringa con la insulina regular, pues ésta reaccionaba con la protamina, que estaba en exceso, cambiando las proporciones de ambas insulinas (Burnham, 1951).

El compuesto era altamente estable, conservando casi totalmente su actividad a los 300 días de haberse elaborado. Eso sí, había que instruir a los pacientes para que agitaran e invirtieran el vial repetida y suavemente al menos durante un minuto antes de la inserción de la aguja para la extracción del líquido. También se les debía indicar que nunca utilizaran alcohol para esterilizar tanto la jeringa como la aguja, a menos que ambas estuvieran bien secas antes de usarlas. Un problema a mayores era la contaminación por álcalis de las jeringuillas, que actúan sobre los precipitados

de insulina. Por ello se les recomendaba limpiar con vinagre las mismas dos veces por semana, lavándolas bien posteriormente con agua para que no quedaran restos de éste. Igualmente, había que insistirles que si empleaban simultáneamente insulina protamina zinc e insulina regular debían emplear distintas jeringuillas y sitios separados para la inyección, para prevenir la contaminación entre ambas insulinas (Rabinowitch *et al.*, 1937). Recordar aquí que por aquella época el material desechable para la aplicación de la insulina no existía. No fue hasta 1956 cuando el veterinario y farmacéutico neozelandés **Colin Murdoch** desarrolló el primer modelo, aunque realmente se hizo habitual en la práctica cuando, en 1973, la mejoró el riojano **Manuel Jalón Corominas**, también inventor años antes de la fregona (Valenzuela, 2014).

Ya por aquellos tiempos los objetivos a conseguir con el tratamiento de la diabetes mellitus eran los siguientes (MacBryde, 1947):

- ✓ Aliviar los síntomas.
- ✓ Mantener una nutrición normal.
- ✓ Prevenir acidosis y, por lo tanto, el coma y la muerte.
- ✓ Prevenir hiperglucemia excesiva y la glucosuria.
- ✓ Prevenir complicaciones.
- ✓ Permitir el desarrollo de una la mayor tolerancia posible a los carbohidratos.

Con la PZI se lograba claramente un mejor control de la diabetes. Se observó que estaban dentro de los límites normales (menos del 0,120 por ciento de glucemia) sólo el 6,6 % de los pacientes en tratamiento con insulina regular, un 53,3 % con insulina protamina y hasta un 70,0 % con la protamina-zinc-insulina. Eso sí, eran más frecuentes las hipoglucemias necesitando, por lo general, una cantidad menor de PZI que de insulina rápida. Además, parecía ser más efectiva en los pacientes denominados "insulin-wasters" (derrochador de insulina), (Rabinowitch *et al.*, 1936b) a los que hoy en día denominamos resistentes a la insulina exógena.

Si bien, como en el caso de la insulina protamina, se seguía prefiriendo la insulina rápida para el tratamiento del coma, había muchos clínicos que usaban ésta y la PZI conjuntamente, asegurando que de esta forma era más fácil la recuperación del paciente (Kepler, 1938). También cuando el paciente en tratamiento con PZI presentaba una infección que conllevaba la aparición de glucosurias, sobre todo si eran jóvenes, era habitual añadir de 4 a 8 U de insulina rápida antes de la cena mientras estuviera presente dicho proceso patológico (Butler, 1940).

Desde su aparición se la prefería emplear en dosis única en aquellos que utilizaban menos de 40 U diarias frente al empleo de tres dosis de insulina amorfa o cristalina (o sea, insulina rápida), mostrando su superioridad en los estudios disponibles (Joslin, 1937; Mosenthal, 1938). Se administraba generalmente por la mañana y debían tomar un suplemento alimentario hacia las 9 o 10 de la noche, para evitar la hipoglucemia nocturna (MacBryde y Roberts, 1943). El problema era que, en ocasiones, había que añadir una dosis de insulina rápida también por la mañana dada su lentitud en empezar a actuar (Bailey y Marble, 1942). No obstante, para aquellos pacientes que querían seguir desayunando “a la antigua” en el mundo anglosajón, esto es como la comida principal del día, era útil inyectarla por la noche (Kepler, 1938). No obstante, otros autores comprobaron que el control era igual se diera a la hora que fuera, recomendando su administración a la hora que más le conviniera al paciente (Mark, 1939), algo similar a lo que se aconseja actualmente con los análogos de acción lenta (European Medicines Agency, 2015a).

Una prueba de su efectividad en el diabético era una disminución, similar a la obtenida con la insulina regular, en el tamaño hepático cuando estaba presente una hepatomegalia (Sherrill, 1938). También desde su introducción en el tratamiento de la diabetes eran menos frecuentes el coma, la cetosis, la gangrena y la infección (Mosenthal y Mark, 1941).

Sin embargo con ella se debía de ser muy cauto con el individuo anciano con una enfermedad coronaria o cardíaca, potencial o real. La diabetes en ellos solía ser leve y ya pequeñas dosis de insulina regular les afectaban mucho. Sería muy imprudente permitir una hipoglucemia prolongada en estos casos, máxime porque el paciente tenía una escasa capacidad para advertir que el azúcar en la sangre había disminuido a unos niveles peligrosos. También había que considerar que la PZI producía un aumento de peso mayor que la insulina regular y éste empeoraba el control de la diabetes y hacía necesario, a largo plazo, una mayor cantidad de insulina (Sherrill, 1938). Igualmente, los casos de alergia a la insulina eran más frecuentes con la PZI que con la insulina regular, algo que era de esperar dado la mayor complejidad de su composición (Rabinowitch, 1939).

Las manifestaciones sintomáticas y objetivas de la hipoglucemia con la insulina protamina-zinc eran claramente diferentes a las observadas cuando se usaba insulina regular. Las reacciones se producían con menos facilidad y frecuencia. Sin embargo, persistían más tiempo y eran más difíciles de superar. No era raro que pacientes con valores del 0,050 por ciento (50 mg/dl) no tuvieran síntomas. Con la regular con 70 mg/dl éstos ya estaban presentes. La razón es que existe una relación

conocida entre la tasa de caída del azúcar en la sangre y la brusquedad de la reacción. Por otra parte, la sintomatología era totalmente diferente, pues lo más común era la somnolencia, la confusión mental, la laxitud y el hambre. Los síntomas clásicos que presentaba la hipoglucemia por insulina rápida, esto es la sudoración, las palpitaciones y el temblor, eran generalmente raros. Muchos pacientes presentaban estupor completo e inconsciencia como primeros síntomas (Sherrill, 1938). Por ello era muy importante interrogarles sobre las cefaleas matutinas, las sudoraciones o la agitación nocturna, signos de una posible hipoglucemia durante las horas de sueño (Mosenthal y Mark, 1939).

Aproximadamente un 25 % de los pacientes se controlaban con una dosis al día y entre otro 25 a 50 % se controlan con una dosis de PZI y otra de insulina regular (Lawrence, 1939). Estos porcentajes eran para otros autores del 43% y del 57 % respectivamente, destacando que prácticamente el total de los que necesitaban una sola inyección usaban diariamente 40 U o menos (MacBryde, 1947). Cuando se empleaban ambos tipos de insulina la relación de unidades entre PZI e insulina regular era generalmente de 3 a 1 (MacBryde, 1947). No hay duda de que su uso requería una mayor atención tanto por parte del médico como del propio paciente, que debía distinguir y saber manejar ambos tipos de insulina (MacBryde y Roberts, 1943). Eran precisos unos mayores cuidados en la técnica de administración y en el manejo dietético. La insulina protamina zinc había mejorado, pero no simplificado, el tratamiento de la diabetes (Lande, 1939). Igualmente, había que tener presente que los diabéticos que requerían una dosis de 60 U o más al día podían escapar del control glucémico por la noche a menos que se administrara una dosis de insulina rápida antes de la cena (Nabarro y Stowers, 1955). Pese a todo en torno a un 70 % de los pacientes que la empleaban estaban muy conformes con ella, aunque era necesario una buena educación para que se la autoinyectarán correctamente (Joslin, 1938). Además, se recomendaba que cuando se pasaba de la insulina regular a la PZI se ingresara al paciente unos días, pues al principio se alarmaban tanto él como su familia al existir un periodo de unos días en el que empeoraba el control glucémico. Por otra parte, siempre había que tener en cuenta la posibilidad de que proporcionara un peor control que la insulina regular, pues había un pequeño grupo de pacientes en que así era (Kepler, 1938).

Igualmente, si bien era una insulina que disminuía de forma drástica los periodos de cetosis del diabético y lograba que volvieran a su vida ordinaria y a una plena ocupación en dos o tres semanas, no se podía aplicar en aquellos en los que sus horarios de comida tuvieran frecuentes cambios, pues haría que padecieran numerosas hipoglucemias (Lawrence and Archer, 1937).

Los preparados de esta insulina, que contenía 40 u 80 unidades por ml, se suministraban en viales de 10 ml. El efecto reductor de azúcar en la sangre de 40 unidades de insulina protamina zinc era muy diferente del de 40 unidades de insulina no modificada y los dos productos no eran directamente intercambiables. La insulina protamina zinc era una preparación que contenía un precipitado que no era cristalino y que podía suspenderse agitando suavemente el vial para formar una suspensión lechosa uniforme. El producto contenía fenol, en una concentración del 0,25 %, y glicerina, en una concentración del 1,6 %. También contenía fosfato ácido disódico para mantener los valores de pH entre 7,1 y 7,4 a una concentración de aproximadamente 0,2 %. Se añadía zinc a la preparación, en forma de una sal adecuada tal como cloruro de zinc, en una cantidad suficiente para proporcionar 1 mg por cada 500 unidades de insulina (0,2 mg por 100 U). La cantidad de protamina que se utilizaba se determinaba de acuerdo con los ensayos biológicos en los que se comparaba el efecto en la disminución de la glucemia de la muestra de ensayo con el de la preparación estándar de insulina zinc protamina. La cantidad de protamina requerida era usualmente de 1,4 mg por cada 100 unidades de insulina. La preparación de insulina protamina zinc en solución ácida, que contenía insulina, protamina y zinc, junto con las cantidades apropiadas de glicerina y fenol, se esterilizaba por filtración. También se esterilizaba por filtración un tampón alcalino que contenía fosfato de sodio y las cantidades apropiadas de glicerina y fenol. Las dos soluciones se almacenaban en recipientes separados. Los viales terminados del producto se llenaban a partir de éstos, añadiendo a 5,25 ml de la solución ácida un volumen similar de la solución de tampón alcalino. Esta adición cambiaba la acidez a un pH entre 7,1 y 7,4 y provocaba la precipitación del principio antidiabético activo a un estado amorfo o no cristalino. En la insulina protamina zinc al menos el 98% de la actividad estaba contenida en el precipitado. Por lo tanto, era muy importante que la preparación se agitara suavemente para asegurar una suspensión uniforme antes de cada retirada de una dosis del vial. Éste no debía usarse si no contenía un precipitado blanco lechoso (Fisher, 1955). Dado que la mayoría de los pacientes diabéticos habían recibido poca o ninguna capacitación científica, era probable que se produjera alguna variación en la dosificación de un día a otro, aunque los resultados clínicos indicaban que esta fuente de error era relativamente pequeña (Bailey y Marble, 1942).

La acción prolongada de la insulina protamina zinc dependía por una parte del mantenimiento del pH entre 7,1 y 7,4 y por otra de la cantidad de protamina utilizada. En su preparación ésta estaba siempre en exceso con respecto a la que realmente se requería para precipitar toda la insulina. La cantidad de este superávit variaba inevitablemente de lote a lote. Por lo tanto, como ya hemos dicho, no se

recomendaba su combinación con insulina rápida en la misma jeringuilla. Sin embargo, algunos médicos, para evitar los dos pinchazos, las administraban juntas, teniendo cuidado en evitar la mezcla de las dos preparaciones en la jeringuilla. Para este propósito usaban las agujas que tenían un orificio largo y estrecho y no las de orificio ancho (Fisher, 1955). A mayores, había que tener cuidado y extraer en primer lugar la insulina rápida y luego la PZI, pues de esa manera no había riesgo de que esta última entrara por error en el vial de la primera y la precipitara (Micks, 1956). La mezcla de tres partes de insulina estándar y dos partes de insulina protamina zinc en la misma jeringuilla ofrecía los resultados más prometedores (Ulrich, 1941).

Otros autores aprovechaban precisamente esta propiedad y el exceso de, aproximadamente, el 40 por ciento de protamina para que reaccionara con ella la insulina regular, haciendo precipitar una parte de ésta. Se observó que de cada tres partes de insulina rápida precipitaba una. Por ello mezclaban a partes iguales la insulina protamina zinc y la insulina regular, añadiendo un tampón para ajustar el pH a 7,2 con lo que lograban un mejor control de sus pacientes (MacBryde y Roberts, 1943), mejor que con sus insulinas previas (Sanz del Fierro y Sevringhaus, 1945). Otros autores encontraron unos mejores resultados, en términos de menos glucosurias y menos hipoglucemias, mezclando dos partes de insulina soluble con una parte de insulina protamina de zinc a la concentración U-80. Además se constató que el tiempo que llevaba hecha la mezcla no afectaba apreciablemente a su acción, siendo estable durante meses. Incluso la cantidad de insulina necesaria era aproximadamente un 10 por ciento inferior. Se obtenía una acción ligeramente más intensa a partir de las mezclas hechas con insulina regular amorfa que con insulina cristalina, probablemente debido al contenido de proteína inerte de la primera. Dado que la protamina es un precipitante proteico general, parte de su exceso que entraba en las mezclas de insulina amorfa precipitaba una pequeña fracción de dicha proteína inerte, reduciendo así la cantidad de protamina disponible para la precipitación de la insulina. El resultado neto era una insulina más soluble y una acción más intensa que en las mezclas hechas con insulina cristalizada, en la que todo exceso de protamina disponible precipitaba la insulina, ralentizando y debilitando la acción de la mezcla. (Colwell e Izzo, 1943). Curiosamente el método no se plasmó en un uso comercial.

Llegados a este punto debemos de hacer la observación que estaban valorando el tratamiento con una insulina, que podríamos integrar dentro de lo que hoy en día se llaman “insulinas basales”, a diabéticos de tipo 1 con un solo pinchazo diario. Está claro que con esa pauta aún con las actuales insulinas y análogos también

tendríamos periodos de hiper y de hipoglucemias. Incluso con la única mezcla comercial aprobada de análogo largo/corto (Ryzodeg®: insulina degludec/insulina aspart en una proporción 70/30) se indica a mayores el empleo de una insulina rápida en el resto de las comidas (European Medicines Agency, 2017b). Como se puede apreciar de lo expuesto anteriormente hablaban de un buen control de un 25 a un 40 % con la PZI. Porcentaje que sumados aquellos con una dosis de PZI y otra de insulina rápida subía a un 70 por ciento, que se elevaba a casi un 90 % con la mezcla en el mismo vial. Es evidente que lo único que puede explicar estos resultados, muy superiores a los que obtendríamos hoy con las insulinas actuales, es bien la mayor laxitud en los criterios de control de la enfermedad, bien el gran rango de glucemia que expresa la glucosuria, que era el autocontrol empleado en dicha época. Control que no se podía verificar por medio de la hemoglobina glucosilada, pues se descubrió mucho después. De no ser así estaríamos afirmando que hemos abandonado una insulina con un gran resultado para pasar a otras mucho más mediocres.

Las moléculas de la PZI estaban unidas por el grupo carboxílico de la insulina y el amínico de la protamina. Generalmente vehiculaba algo de albúmina, derivada de su extracción del páncreas animal. La que elaboraba, por ejemplo, la casa Novo contenía por 1,8 mg por centímetro cúbico de insulina cristalizada, 0,08 mg. de zinc y 0,3 de protamina. Su efecto era de unas 24 horas. Degewop, Lilly, Organon, etc., entre otras muchas empresas farmacéuticas que preparaban productos sinónimos tenían en común la protamina, la insulina y el zinc. En España la firma Zeltia fabricaba una insulina de las mismas características que las anteriores. La Fixulina® de Schering era de una composición parecida, pero en ella, la solución buffer debía de ser añadida a la insulina momentos antes de la inyección y esto resultaba incómodo y producía una dosificación poco exacta. Otro preparado de elaboración diferente a las anteriores era la Insulina Nativa "Bayer". En ella, la insulina era extraída del páncreas por una reacción neutra y no tenía más fracción de albúmina que la obtenida del mismo páncreas por esta técnica. Además de zinc tenía magnesio. Se supone que su acción era más fisiológica por así serlo la albúmina en ella contenida. Su efecto comenzaba a las 4 horas y duraba más de 24. Se observó que producía graves descompensaciones en niños, no sabiendo muy bien el por qué (Rodríguez-Miñón, 1943).

En resumen, decir que la PZI es una insulina que presenta un perfil que cubre todo el día y que se podía usar sola en aquellos pacientes que precisaban 40 U o menos al día, teniendo que añadir por separado insulina rápida cuando se necesitaba una cantidad mayor. Con ella había que estar atentos a las hipoglucemias, pues al

instaurarse más lentamente predominaban los síntomas gluconeuropénicos frente a los adrenérgicos. Fue uno de los pilares del tratamiento de la diabetes hasta la posterior aparición de las insulinas Lente.

6.3.21.2. PZI clara

La insulina clara de protamina zinc era una insulina de acción prolongada cuya duración de efecto, entre dieciocho y veinticuatro horas, se encontraba entre la insulina cristalina y la insulina protamina de zinc turbia. Con ella se necesitaba un suplemento alimentario a media tarde para evitar reacciones hipoglucémicas al final de la misma, omitiendo la ingesta antes de acostarse para disminuir la tendencia a la hiperglucemia a la mañana siguiente. (Bailey y Marble, 1942). Todo ello hizo que nunca desplazara a la PZI turbia, desapareciendo pronto del vademécum de la insulinoterapia.

6.3.22. INSULINA PRECIPITADA EN ALUMINIO

La precipitación de principios biológicos activos, como el toxoide diftérico, por los alumbres sugirió esta posibilidad para preparar una insulina. La técnica era agregar a 100 ml de insulina ordinaria U40 10 ml de una solución al 50 % (en peso) de alumbre de sodio $\text{NaAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ en agua destilada estéril. Entonces se producía una precipitación. Después se mantenía 24 horas en el refrigerador entre 5 y 10 °C, con un centrifugado posterior a 3500 r.p.m. durante 30 minutos. El fluido sobrenadante claro, que sólo contenía del 5 al 10 % de la insulina original se le agregaba una porción adicional de 10 ml de la solución de alumbre de sodio al 50 %. Después de permanecer durante una semana en el refrigerador a 5 °C, se obtenía un segundo precipitado denominado insulina precipitada al alumbre, que era un polvo amorfo blanco, insoluble en alcohol, éter y éter de petróleo y ligeramente soluble en agua destilada neutra (pH 7). Producía su pico de acción entre las 7,5 a 12,5 horas, con una duración de 15 a 30 horas (Rosenthal y Kamlet, 1937). Aunque por su perfil podía haber ocupado un hueco en el tratamiento de la diabetes el aprovechamiento de tan sólo el 10 % de la insulina empleada la relegó al olvido.

6.3.23. INSULINAS CON SUSTANCIAS LIPOIDEAS

Otra combinación, muy en uso a principios de los años cuarenta, era la "Neoinsulín Degewop[®]" que poseía una sustancia lipoidea básica con sólo el 1,2 % de nitrógeno, por lo que se la consideraba libre de proteínas (Colwell *et al.*, 1942). Comenzaba su efecto a la hora y duraba 24. Las sustancias lipoideas daban menos problemas de anafilaxia que las proteínas (Rodríguez-Miñón, 1943).

Menos utilizadas, pero que también puede ser incluida en este grupo, es la combinación de insulina con sulfosalicilato dietilamínico (Retard-insulín[®]) propuesta por Cazzani y colaboradores (Rodríguez-Miñón, 1943).

Otra aplicación con otro lípido era la implantación subcutánea de tabletas o pellets de PZI con colesisterina. Su duración era, aproximadamente, de 100 días pues se absorbía en torno a un 1 % diario (Vargas, 1949). No obstante, su lugar en la terapéutica de la diabetes fue nula por su absorción errática. También se trabajó con pellets con 4 partes de insulina cristalina de zinc y 1 parte de protamina, que contenían el equivalente de 43 a 88 U de insulina. Evidentemente en este caso no llevaban lípidos. Su duración era mucho menor, de 44 a 100 horas, y producían un marcado edema local en el sitio de la implantación (Mark y Biskind, 1940). También se abandonaron.

6.3.24. INSULINA CON AMINOQUINURIDA (SURFEN[®])

La aminoquinurida (2-metil-4-aminoquinolil-6-carbamida-Cl) o Surfen[®] era un desinfectante tanto para uso doméstico como para las heridas. Desde 1938 Hoechst la empleó para producir una insulina de acción larga, ya que forma complejos insolubles con la insulina que al inyectarse produce un depósito que se libera lentamente. Su perfil la encuadraba dentro de las insulinas de acción intermedia. Tenía fundamentalmente dos problemas. El primero era que había que realizar la suspensión inmediatamente antes de inyectarla. El segundo era que había reacciones alérgicas a la aminoquininida, pero eran menos que a la protamina (Umber *et al.*, 1938). En 1951 sacaron al mercado "Komb insulin Hoechst[®]", una mezcla de dos tercios de esta insulina y un tercio de insulina cristalina. Finalmente se dejó de producir en el 2005 (Sanofi, 2017). Realmente esta vía fue la única destacable a nivel práctico fuera del campo de las proteínas, del zinc y de la U-500, que aparecería en 1952.

En España se comercializaba con el nombre "Depot-insulina Bayer®". Llevaba la mitad de zinc que la PZI. Su acción comenzaba a las 2 horas y duraba unas 20 horas (Rodríguez-Miñón, 1943). Este mismo preparado fue reelaborado posteriormente en forma de solución de insulina y Surfen® (el anterior era una suspensión coloidal). Lo lanzó Bayer con el nombre de "Depot-insulina Clara®". Decían que su efecto empezaba antes. Sobre la anterior tenía la ventaja de ser una dilución transparente que no floculaba en el tubo. Sin embargo, esta transparencia podía ser la causa de que no fuera agitada por el paciente antes de su uso, lo que impedía su reparto uniforme. Al ser inyectada y alterarse su pH en contacto con los tejidos se formaba, por floculación, un depósito del que se separaba la insulina lentamente. Unger había señalado su acción inofensiva sobre el riñón (Rodríguez-Miñón, 1943). No obstante, hay que recordar que todos los logros y las bondades de los fármacos surgidos en Alemania durante el régimen nazi hay que valorarlos con mucha cautela.

6.3.25. DERIVADOS AZOICOS DE LA INSULINA

Laszlo Reiner y Everett Lang (1939) prepararon una serie de derivados azoicos de la insulina que contenían hasta quince grupos por molécula. Si los radicales sustitutivos contenían grupos aniónicos, la zona de precipitación isoeléctrica se desplazaba hacia el lado ácido y no había pérdida apreciable de su potencia. Los grupos de sustitución catiónica causaban un desplazamiento de la zona de precipitación isoeléctrica hacia el lado alcalino produciendo entonces una cierta pérdida de potencia. Con ellos, por medio de un cambio de su solubilidad, pretendían aumentar su duración. Al final llegaron a la conclusión de que la acción retardada con estos productos añadidos a la insulina se debía a como se producía su descomposición y la posterior liberación de insulina en lugar de a una baja solubilidad (Reiner y Lang, 1939). Estos preparados no llegaron a comercializarse.

6.3.26. LA ARGININA INSULINA

La adición de arginina neutralizada a la insulina producía un retraso similar al obtenido al agregar protamina, de unas 10 a 13 horas. A mayores, la adición de 2,5 mg por unidad de insulina de cloruro de zinc a la mezcla de insulina arginina prolongaba su efecto en un grado aún más considerable, en torno a 12 a 16 horas más (figura 20) (Vartiainen y Bastman, 1939). Pese a las grandes expectativas

iniciales desgraciadamente no se logró ningún aumento del tiempo de acción clínicamente significativo con esta asociación

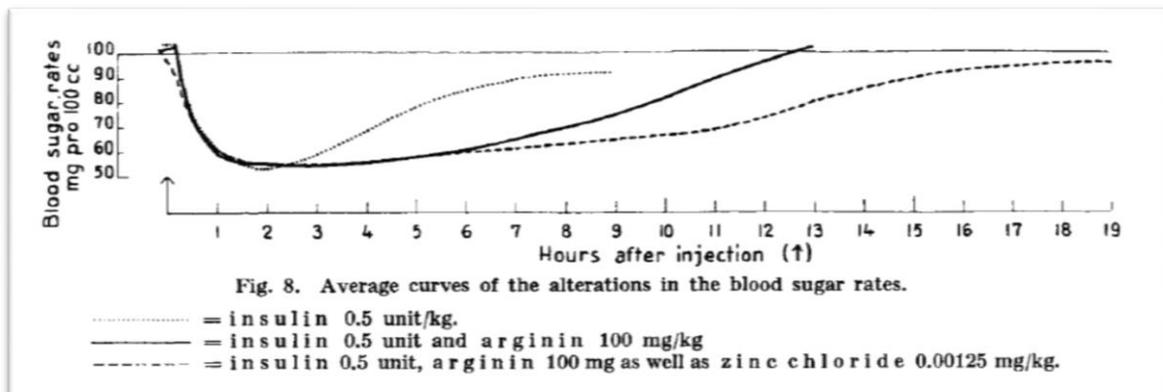


Figura 20: Comparación de insulina regular cristalina, insulina arginina e insulina arginina con zinc (Vartiainen y Bastman, 1939).

6.3.27. INSULINA CON PECTINA: DECURVON®

Se comercializa en 1939. Su efecto hipoglucémico empezaba inmediatamente después de la inyección pero no era tan prolongado como la PZI, por lo que no tuvo gran repercusión clínica (Brahn, 1949).

6.3.28. INSULINA CON ADRENALINA Y EXTRACTOS DEL LÓBULO POSTERIOR DE LA PITUITARIA

Se la denominaría “pituintrina”. Es el Deposulin® de Novo, comercializado en 1940. Como base tenía insulina cristalina regular a la que se le añadía el extracto de pituitaria (Revel, 1940). Lograba un efecto de unas doce horas, pero algo errático (Holland y Weyer, 1938). Inicialmente los datos apuntaban a que producía un mejor control de la diabetes que la insulina rápida y con menos hipoglucemias (Taeger y Danish; 1937), si bien la cantidad a administrar no debía de superar las 100 U al día (Schrank, 1938).

Tenía el inconveniente de que, aunque inhibía la diuresis y la eliminación de azúcar en las primeras horas, luego había una sobreeliminación que anulaba lo que al principio parecían ventajas (Rodríguez-Miñón, 1943). Los efectos vasopresores del extracto de pituitaria la hacían peligrosa en los hipertensos o en los sujetos con arterioesclerosis (Revel, 1940). Finalmente se abandonó.

6.3.29. LA INSULINA HEXAMINA

Raymond Warburton desarrolló, en 1940, un compuesto de insulina y tetramina de hexametileno añadiendo 0,25 granos de hexamina a 1000 unidades de insulina. Es una insulina clara con un efecto inmediato y sostenido. Inicialmente se comunicó que una dosis única podía sustituir a 2 o 4 dosis de insulina estándar, produciendo una curva muy similar de glucemia. Además, si se producía una hipoglucemia respondía rápidamente a la ingestión de carbohidratos y no tenía los problemas de las insulinas precipitadas que precisaban ser agitadas largo tiempo para homogeneizarse (Feinblatt *et al.*, 1940). No obstante, los resultados posteriores no debieron de ser tan alentadores pues no pasó de las investigaciones iniciales.

6.3.30. LA HISTONA ZINC INSULINA

La histona es una proteína que se obtenía del timo, generalmente de ternera, aislando primero el núcleo-histona y procediendo luego a su hidrólisis por el procedimiento de Felix y Harteneck (Calvet *et al.*, 1941).

Esta insulina fue descrita en 1937 por los argentinos **Biasotti, Deulofeu y Mendive**, siendo comercializada posteriormente por Eli Lilly, pero unida a zinc (Joslin, 1942). Inicialmente no se sabía claramente el papel exacto del zinc pero se tenía claro que sin él cambiaban las propiedades físicas de la insulina, por ello estaba presente en casi todas sus formulaciones (Gray *et al.*, 1937). Los trabajos de Barnes, Cuttle y Duncan demostraron esto para la insulina histona zinc (Bailey y Marble, 1942). Mientras que los efectos hipoglucémicos de la insulina cristalina desaparecían entre 6 y 8 horas después de la administración, los de la histona zinc insulina lo hacían entre las 18 a las 22 horas, una duración algo menor que la de la insulina protamina zinc, que lograba una duración de 24 a 36 horas (figura 21) (MacBryde y Roberts, 1943). Sin embargo, en su inicio de acción, la insulina histona zinc hacía desaparecer la glucosuria de una forma más temprana que la PZI, lo que la confería una ventaja en algunos pacientes (Barnes *et al.*, 1941). Este efecto podía deberse tanto a su acción *per se* como a la presencia de una cierta cantidad de insulina soluble en el sobrenadante, que explicaba su acción en la glucemia en forma de M, con una bajada, seguida de un ligero aumento y una nueva bajada (Bailey y Marble, 1942) (figura 21), prácticamente como una mezcla.

Producía menos hipoglucemias que la PZI y pocas reacciones locales cutáneas. Daba buen resultado en los niños. Si la cantidad a emplear era superior a 40 U al día

generalmente se necesitaba asociar otra dosis de insulina cristalina. Un gran problema era que cuando los lotes estaban preparados algunos meses antes de su empleo la insulina tendía a aglutinarse y adherirse al cuello del vial, especialmente en la concentración de 80 U/ml (Bailey y Marble, 1942).

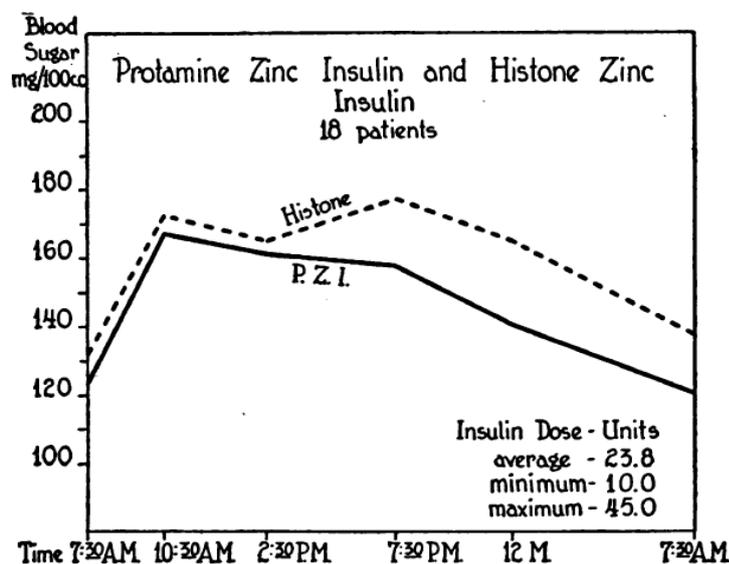


Figura 21. Diferencias en la acción de la insulina protamina zinc (PZI) y la insulina histona zinc (MacBryde y Roberts, 1943)

6.3.31. LA INSULINA GLOBINA ZINC

La desarrollan en 1939 **Laszlo Reiner, Donald Searle y Everett Lang** para los laboratorios británicos Burroughs Wellcome & Co. (Rabinowitch *et al.*, 1947). Estaba en el mercado en 1944 (Pugh, 1950), en plena Segunda Guerra Mundial.

La globina se aislaba partiendo de la hemoglobina de buey, hidrolizando el cromoproteido por el proceso simplificado de Birkofer y Taurins. El problema era que si se volvía a disolver por la disminución del pH desaparecía por completo su acción retardada. Su efecto comenzaba entre una y dos horas, tenía un pico a las 8 horas y duraba hasta las 24 horas (Calvet *et al.*, 1941). Algunos autores avisaban de los posibles errores que se podían cometer al ser transparente, como la insulina regular, ya que la mayor parte del resto de las insulinas de acción larga eran turbias y podía haber confusiones en su administración (Lawrence, 1943). Es más, se hacía hincapié en que si el vial estaba turbio no se usara (Fisher, 1955). Por lo general se trataba de una solución muy estable (Bailey y Marble, 1942).

Esta insulina globina, como se la llamaba de forma abreviada, era una solución acuosa transparente que tenía un pH de alrededor de 3,7 y estaba compuesta de 3,04 mg de globina (una proteína sencilla derivada de la hemoglobina), 0,24 mg de zinc (presente como cloruro de zinc) y 80 unidades de insulina por centímetro cúbico, todo ello junto al 0,18 por ciento de cresol, que se añadía como conservante (Mosenthal, 1944). Esto se traducía en que el producto contenía, aproximadamente, por cada 100 unidades de insulina 0,3 mg de zinc y 3,8 mg de globina. Se distribuía en viales de 10 ml en concentraciones de 40 u 80 unidades por mililitro (Fisher, 1955).

Por lo general tenía su pico de acción a las 1-2 horas y su cese farmacológico a las 17 horas (Gerritzen, 1952) (figura 22). Necesitaba una dosis que era aproximadamente las dos terceras partes de la insulina protamina zinc. Se administraba una hora antes del desayuno. Los que la empleaban debían tomar un suplemento alimentario hacia las 15,30 horas, para evitar la posible hipoglucemia en ese momento del día (Mosenthal, 1944b).

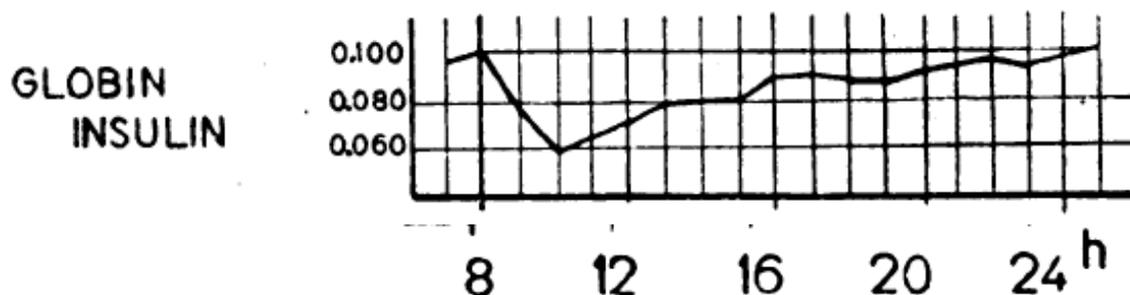


Figura 22: Efecto de la insulina globina (Laboratorios Burroughs Wellcome) en voluntarios sanos (Gerritzen, 1952).

La insulina globina venía a complementar el arsenal terapéutico disponible, siendo efectiva en algunos casos en los que la PZI no lograba un buen control de la diabetes (por aquel entonces se consideraba como tal tener glucemias en ayunas por debajo de 150 mg/dl y postprandiales menores a 200). En estos bien sustituía a la PZI bien se empleaban ambas juntas, buscando un control diurno proporcionado por la insulina globina y el nocturno por la PZI (Rabinowitch *et al.*, 1947).

Tras seis años de trabajar con ella (Pugh, 1950) se llegó a la conclusión de que era útil en los diabéticos de una cierta edad que necesitaban menos de 40 UI diarias. Los diabéticos severos jóvenes, si se trataban con una sola inyección diaria de insulina globina, mostraban una glucosuria intensa por la mañana y una poliuria nocturna, amén de sed y pérdida de peso. Si se les aumentaba la dosis producía muchas reacciones hipoglucémicas a mediodía sin que, a cambio, aliviara los síntomas diabéticos. Estos pacientes se controlaban mejor con dos dosis diarias de insulina cristalina soluble o con una combinación de insulina soluble e insulina zinc protamina. Sin embargo, otros autores defendían que era la mejor insulina para controlar a los pacientes ambulatorios con una diabetes no complicada (Wauchope, 1948). Las dudas surgen cuando esta aseveración se observa que proviene siempre de médicos ingleses, país de origen de esta insulina.

Por lo general la diabetes de intensidad leve o moderada podía tratarse a menudo con una sola inyección diaria de esta insulina. Los "diabéticos frágiles" severos podían estar bien controlados por dos inyecciones. Aproximadamente tres cuartos de hora antes del desayuno se aplicaba la primera dosis y la segunda antes del té o de la cena. Con esta pauta las hipoglucemias tendían a ocurrir durante la tarde, siendo necesario aumentar la ingesta en la merienda (en el Reino Unido a la hora del té). Las reacciones de sensibilidad a la globina de esta preparación tampoco eran en absoluto infrecuentes (Nabarro y Stowers, 1955).

En resumen, se puede decir que la insulina globina, comparada con la PZI, tenía su pico antes pero una duración menor (Ghosh *et al.*, 1947) (figura 23). Llegados a este punto hacer la observación en que las gráficas aportadas en un pasado sobre las insulinas muestran las disminuciones de glucemia. En la actualidad los autores muestran los niveles de insulina. A nuestro parecer era mucho más real la forma de expresarlo por aquel entonces pues se amolda más a lo que puede observar el clínico y tiene en cuenta las acciones contrarreguladoras que se producen.

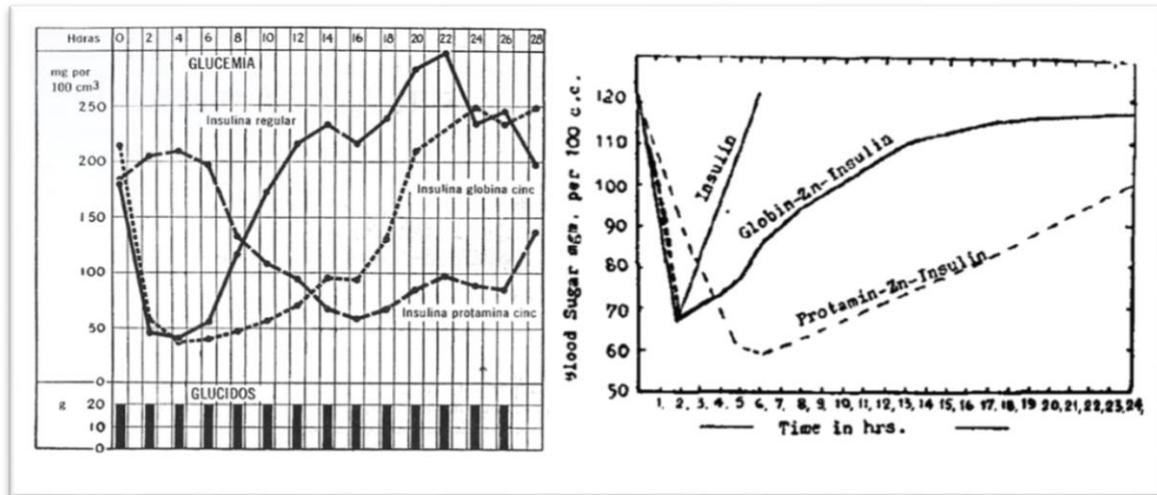


Figura 23: Comparación del efecto sobre la glucemia de la insulina regular, la insulina globina y la PZI. A la derecha la gráfica aportada por Wright y Montag en 1950 y a la izquierda la de Ghosh *et al.* de 1947.

Al final, aún con la llegada de la insulina globina, se podía decir que todas las insulinas disponibles en la primera mitad de los años cuarenta podían ser igualmente útiles mientras estuvieran elaboradas por firmas de garantía y estuvieran bien manejadas, pudiendo intercambiar unas por otras sin ningún problema (Rodríguez-Miñón, 1943).

6.3.32. INSULINA PRECIPITADA CON CLOROFORMO

Cuando las soluciones acuosas de insulina se emulsionaban con agentes adsorbentes, tales como el cloroformo, durante un período de tiempo suficiente la insulina se vuelve insoluble. Después de que se ha eliminado el agente adsorbente, la insulina permanece como una suspensión birrefringente que produce una insulina prolongada similar a la producida por otras preparaciones de insulina insolubles, tales como la insulina protamina de zinc, hecho que se demostró inyectándola subcutáneamente en conejos y perros. Las soluciones que contenían 10 U por ml de insulina cristalina de zinc tamponadas al 0,85 % (pH 2,6) se sellaban en unos tubos de vidrio pyrex con volúmenes iguales de cloroformo del grado más puro. Se emulsionan mediante agitación en un dispositivo impulsado por un motor. El disco de insulina insoluble que se formaba tras la centrifugación posterior se liberaba del cloroformo disminuyendo la presión en una temperatura por debajo de los 40°C y

se suspendía posteriormente en una solución salina fisiológica neutra. La insulina cristalina de zinc adsorbida por esta emulsión de cloroformo se volvía insoluble y tenía una acción de 24 o más horas. No obstante tenía una actividad fisiológica muy reducida (Johlin, 1941). Esto hizo que finalmente no fuera comercializada.

6.3.33. SUBTOSAN-INSULINA O POLIVINIL-INSULINA

Era un compuesto de acción retardada obtenido en 1945 por **Durel** y **Dubost** mediante la combinación con insulina soluble en polivinil-pirrolidona (o subtosan) al 25 por 100. Éste se estaba estudiando como un expansor del plasma (Fisher, 1955). Muy pocos tuvieron experiencia con ella (Ortega Núñez, 1953).

6.3.34. INSULINA NP50 o MPZ

Fue desarrollada por **MacBryde** y **Roberts** en 1943 y luego fue fabricada por Eli Lilly Research Laboratories (MacBryde, 1947). Estaba constituida por una PZI precipitada, suspendida a su vez en una solución de insulina rápida. Aproximadamente el 75 % de esta insulina protamina-zinc modificada se precipitaba, absorbiéndose lentamente, mientras que el 25 % restante estaba en la solución y se absorbía de una forma rápida, asumiendo así la proporción entre ambas insulinas cuando se administraban por separado, o sea, 3 a 1 (MacBryde, 1947). Sin embargo, otros autores eran partidarios de que la proporción fuera de 2 a 1 (Colwell, 1944). Vino a completar la ya larga lista de insulinas (tabla 3).

Tabla 3: Insulinas existentes a finales de los años 40 (MacBryde, 1947).

Insulina	pH	Fuente de proteína	Aspecto	Proteína*	Zinc*
Protamina Zn modificada NP50	7,2	Esperma de salmón	Turbio	0,50	0,10
Protamina Zn comercial	7,2	Esperma de salmón	Turbio	1,25	0,20
Protamina Zn clara	3,4	Esperma de salmón	Claro	3,80	0,30
Histona Zn	7,0	Timo	Turbio	3,20	0,20
Globina Zn	3,7	Sangre de vaca	Claro	3,75	0,30
Regular	3,0	No	Claro	No	0,02
Cristalina	3,0	No	Claro	No	0,02

(*) mg por 100 U de insulina.

En la década de los cuarenta los criterios que se consideraban para considerar a una insulina como “ideal” para la terapia de mantenimiento de la diabetes eran (MacBryde, 1947):

- Ser efectiva durante, al menos, 24 horas. De ese modo una sola inyección por la mañana sería suficiente.
- Tener una actividad inicial lo suficientemente rápida como para controlar el aumento de glucemia después del desayuno. Además, su actividad debía de ser lo suficientemente prolongada como para prevenir la hiperglucemia durante la noche.
- Tener un perfil de actividad que no requiriera de unas dietas especiales o anormales, pero que permitiera la distribución normal de los carbohidratos en las comidas y que el paciente realizara sus comidas a las horas habituales.
- No causar hipoglucemia.
- Reproducir la curva de azúcar en la sangre de 24 horas lo más cerca posible de la normalidad.
- Ser adecuada para cualquier dosis de insulina que se precisara, tanto si era grande como pequeña.

Los partidarios de la NP50 defendían que se aproximaba mucho a cumplirlos (Peck y Schechter, 1944) afirmando que, con su empleo, el paciente diabético sólo debía tener este tipo de insulina para el día a día e insulina rápida para las emergencias (MacBryde, 1947). Lo cierto es que cumplir estos criterios es hartó difícil. Es más, a día de hoy es muy dudoso que dispongamos de alguna insulina o análogo que los reúna todas estas características.

Sin embargo, finalmente, su escasa estabilidad la relegó a un segundo plano. Realmente se alejaba, en gran modo, del ideal anteriormente expuesto (Ortega Núñez 1953). A mayores, su puntilla fue la aparición de la insulina NPH.

6.3.35. INSULINA NPH50, INSULINA PORCINA ISOFÁNICA PROTAMINA NEUTRA HAGEDORN O INSULINA NPH

Desarrollada en 1946 por **Charles Krayenbühl** y **Thomas Rosenberg** para Nordisk, que la comercializa en 1950. Es la denominada insulina protamina cristalina, isofánica o, el nombre más internacionalmente conocido hasta nuestros días, **insulina NPH**.

Contiene solamente 0,50 mg de protamina por cada 100 unidades de insulina, en lugar de los 1,25 mg que contenía la PZI, lo que permitía su mezcla con insulina rápida en la misma jeringuilla. Esto era, y es, evidentemente su gran ventaja (Burnham, 1951). Eso sí, cuando se preparan mezclas de insulina cristalina y NPH en una jeringa, la práctica aceptada era introducir primero la insulina cristalina. Esto significaba que había una pequeña cantidad de insulina presente en el "espacio muerto" de la punta de la jeringa y el lumen de las agujas disponibles en aquella época, más gruesas que las actuales. Esto equivalía aproximadamente a 0,05 ml. En el caso de la concentración de insulina de 40 U/ml suponía 2 unidades. Cuando se trataba de la insulina de 80 U/ml eran 4 unidades. Por lo tanto, los valores dados para la cantidad de insulina cristalina en las mezclas eran levemente más grandes de lo que se inicialmente se pensaba (Stephens *et al.*, 1951).

También la cantidad de zinc era menor, en concreto de 0,02 a 0,04 mg por 100 U, frente a los 0,2 mg de la PZI (Palacios Mateos, 1981). Sus efectos clínicos comenzaban a aparecer entre 1 y 2 horas después de ser inyectada, eran de máxima intensidad a las ocho a diez horas, desapareciendo a las 16 a 24 horas (Ortega Núñez 1953). Por ello se recomendaba pincharla al menos media hora antes de la ingesta (Mukherjee, 1952). Sin embargo, en voluntarios sanos su acción comenzaba entre las 2 a 3 horas y duraba de 11 a 12 horas, siempre en función del fabricante (figuras 24, 25 y 26) (Gerritzen, 1952). Queremos destacar que estos valores no coinciden con la actual NPH, pues la insulina de origen porcino o bovino tiene distinto perfil a la insulina humana. De entre las de la época era la más parecida a la insulina ideal (Ortega Núñez 1953).

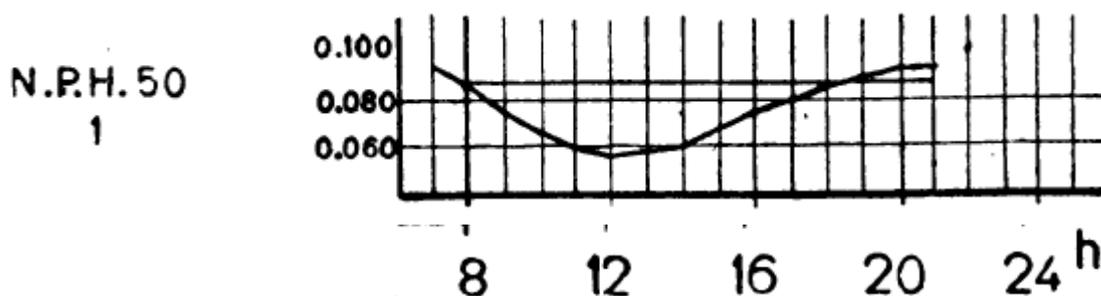


Figura 24. Efecto de la NPH 50 (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos. Pico a las 4 horas y cese de acción a las 11 horas (Gerritzen, 1952)

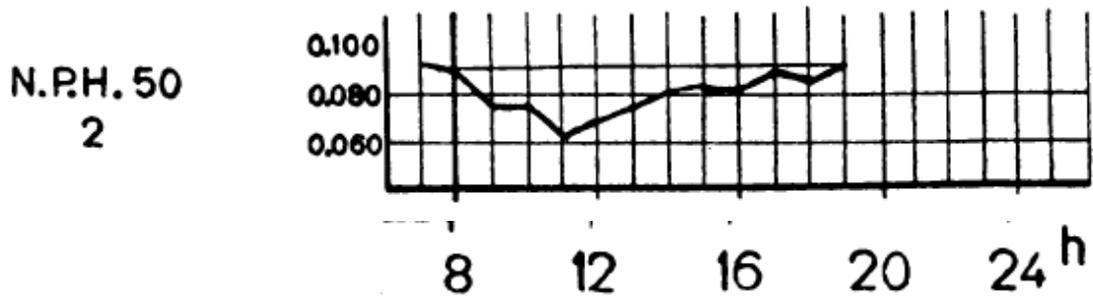


Figura 25. Efecto de la NPH 50 (Laboratorios Lilly) en voluntarios sanos. Pico a las 3 horas y cese de acción a las 11 horas (Gerritzen, 1952). Obsérvense las diferencias en las características en función del fabricante.

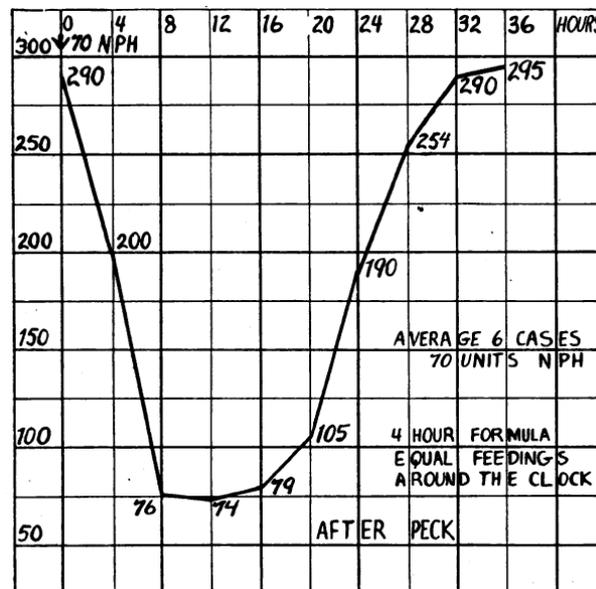


Figura 26. Acción de la insulina NPH. Tomada de Burnham, 1951

A esta insulina se le denominaba inicialmente NPH-50 y contenía protamina modificada por medio de la cristalización (figura 27). Las letras que define su nombre indican la **N** la reacción neutral, la **P** evidentemente proviene de la protamina y la **H** es por haber sido mejorada por Hagedorn, que era el director de Nordisk por aquella época. El número 50 indicaba la modificación producida por la adición de 0,50 mg. de protamina cristalizada por cada 100 unidades de insulina (White, 1949). El número desapareció posteriormente de la denominación para evitar confusiones con las mezclas comerciales existentes y con la NP-50, descrita anteriormente. Dudamos mucho que la H tenga un significado real más allá de la personalidad de

Hans Christian Hagedorn, a todas luces un “káiser” por sus antecedentes, ya referidos, con los hermanos Pedersen que condujeron a su escisión de Nordisk y la formación de la farmacéutica Novo. La literatura consultada no aporta ningún dato sobre un trabajo real suyo en esta insulina, lo que nos induce a creer que su papel fue simplemente el de ser “el jefe”.

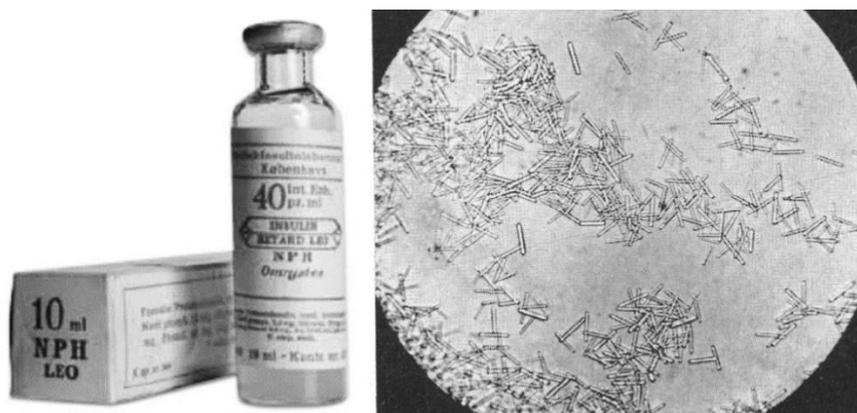


Figura 27: Insulina NPH. Cristales en los que se basa su acción a 244 aumentos (Jamieson *et al.*, 1951).

La NPH era una modificación más estable de la PZI. Se combinaba la insulina y la protamina en unas proporciones de "isofano" (sin exceso de insulina o protamina, lo que también se denomina equimolar), a pH neutro y en presencia de una pequeña cantidad de zinc y fenol y/o derivados del fenol. Generaba unos cristales tetragonales de forma oblonga (Owens, 2011). A diferencia de la PZI, la preparación de insulina NPH podría premezclarse con una insulina de acción rápida, como ya se ha indicado (Nabarro y Stowers, 1955; Oakley *et al.*, 1966). Pronto se hizo muy amplio su empleo, permaneciendo así desde entonces, como una insulina de una o dos veces al día, usada sola o en combinación con insulina soluble según se requiera (Owens, 2011). Incluso, basándose en esta cualidad, el fabricante puso en el mercado de forma muy rápida dos mezclas comerciales, la 50:50 denominada Initarid Leo® y la 30:70 (siendo la primera cantidad la proporción de insulina rápida) o Semitarid Leo® (Roesner and Sauer, 1976).

La insulina NPH se distribuía en Canadá y en los Estados Unidos en viales de 10 cc de sección cuadrada (el resto eran circulares). Cuando se agitaba un vial de insulina NPH, de modo que el precipitado cristalino se suspendía uniformemente, la preparación contenía 40 u 80 unidades por mililitro. También contenía un 0,2 % de

fosfato de ácido disódico para ayudar a mantener la acidez a un pH entre 7,1 y 7,4. Las preparaciones canadienses de insulina NPH contenían cloruro de sodio, en una concentración de aproximadamente 0,43%, y glicerina, ésta en una concentración de 0,8%. Como conservante se le añadía metacresol a una concentración del 0,2 %. La cantidad de protamina utilizada se determinaba por medios químicos, pero normalmente era de aproximadamente 0,5 mg por cada 100 unidades de insulina (Fisher, 1955) y nunca más de 0,6 mg (Jamieson *et al.*, 1951). Esto es, aproximadamente un tercio de la cantidad de protamina usada en la preparación de insulina zinc protamina. Normalmente no era necesario agregar zinc adicional. El contenido total de zinc no excedía de 0,04 mg por 100 unidades de insulina. Esta cantidad es aproximadamente una quinta parte de la que se utilizaba en la insulina protamina zinc. La insulina NPH estaba destinada a la administración subcutánea. No se debía administrar nunca por vía intravenosa (Fisher, 1955).

En la preparación de insulina NPH era esencial usar cristales de insulina-zinc, que estaban relativamente libres de proteína extraña, que son insolubles a un pH de 7. Se había demostrado que la velocidad de formación de los cristales de insulina, protamina y zinc dependía de la presencia de los compuestos fenólicos. También se había encontrado que la presencia de una pequeña cantidad de cloruro de sodio era necesaria para asegurar la preparación de un producto uniformemente cristalino. Por ello, como hemos dicho, en la insulina NPH, están presentes el cloruro de sodio y la glicerina (Jamieson *et al.*, 1951). El conservante es el metacresol. El precipitado cristalino se forma en el momento de llenar los viales. Este relleno comprendía dos operaciones. En primer lugar, se colocaba una solución ácida de cristales de insulina-zinc y protamina. Esto era inmediatamente seguido por la adición de una solución de tampón alcalino, de tal manera que la acidez inicial se convertía en un pH de aproximadamente 7,2. Esto daba como resultado la formación de un precipitado de forma cristalina. Finalmente a todo ello se le añadían las cantidades apropiadas de glicerina, cloruro de sodio y metacresol (Jamieson *et al.*, 1951). Su comparación con otras insulinas se expone en la tabla 4.

Tabla 4. Características de diferentes insulinas (Izzo *et al.*, 1950).

	pH	Apariencia	Agente modificador	mg/100 U insulina	Zinc	Cantidad relativa de insulina en solución y precipitado
Insulina cristalina	3,3	Clara	No	No	0,02	Toda en solución
Insulina protamina Zn estándar	7,2	Turbia	Protamina	1,25	0,20	Prácticamente toda precipitada
Mezcla 2:1 (2 cristalina; 1 PZI)	5,9	Turbia	Protamina	0,42	0,07	Prácticamente toda precipitada
Insulina protamina Zn tipo NP-50	7,2	Turbia	Protamina	0,50	¿?	25 % solución 75 % precipitada
Insulina modificada NPC-40	7,2	Turbia	Protamina	0,40	0,02	Pequeña fracción en solución
Insulina modificada NPH-50	7,2	Turbia	Protamina	0,50	0,02-0,05	Prácticamente toda precipitada
Insulina globina con Zn	3,7	Clara	Globina	3,80	0,30	Toda en solución

Ahora bien, tanto la NPH como la PZI o la insulina globina no lograban, ellas solas, la estabilidad de la diabetes en una no desdeñable proporción de pacientes. En algunas horas del día o de la noche había hiperglucemias que, si se intentaban evitar aumentando la dosis, se tornaban en hipoglucemias (Izzo *et al.*, 1950). Ya se sabía que la hipoglucemia producía cambios en el ECG parecidos a los de la enfermedad coronaria y que era fatal en los enfermos que eran portadores de dicha patología, por lo que había que evitarla (Blanco Soler, 1952).

6.3.36. ISO-INSULINA y DI-INSULINA

La **Iso-insulina** fue desarrollada por **Hallas-Møller** en 1952 para Novo. Su mezcla a partes iguales con insulina corriente era la **Di-insulina** (Fisher, 1955). La Iso-insulina era una insulina retardada que se obtenía por un bloqueo parcial de los grupos amínicos libres de la molécula de la insulina cristalina usando fenil-isocianato. Éste, al unirse de modo estable con estos grupos, originaba un nuevo compuesto químico: la fenil-ureido-insulina (Rodríguez-Miñón, 1954). Este compuesto ejercía unos efectos parecidos, aunque algo menos duraderos, que los de la PZI. La Di-insulina tenía un pico a las 3 horas y un cese de acción a las 16 horas mientras que el pico de Iso-insulina era a la hora y el cese de acción a las 17 horas (figura 28 y 29) (Gerritzen, 1952). Podía mezclarse en proporciones variables con la insulina corriente, sin que la acción rápida de esta última se modificara, siendo la mezcla de mayor utilidad cuando se hacía a partes iguales. Entonces su efecto era máximo a las ocho horas.

Su acción duraba unas dieciséis a veinticuatro horas, si bien no era lo suficientemente intenso y prolongado para regular la hiperglucemia nocturna. Por todo ello era útil sólo en las diabetes leves, que necesitaban menos de 30 unidades de insulina diarias (Ortega Núñez, 1953).

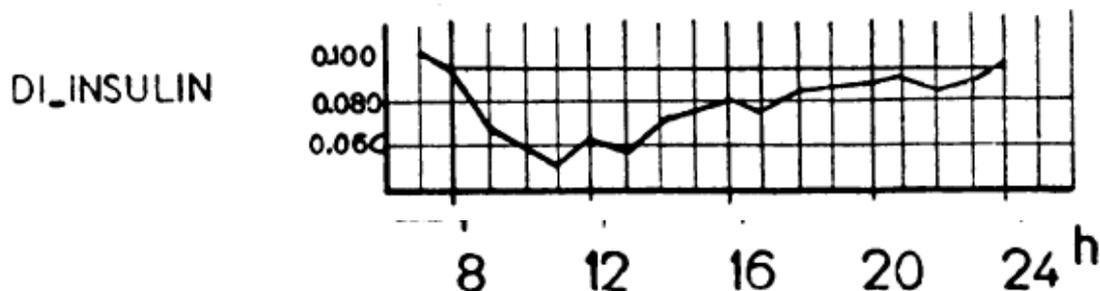


Figura 28: Efecto de la Di-insulina (Laboratorios Novo) en voluntarios sanos. Pico a las 3 horas y cese de acción a las 16 horas (Gerritzen, 1952).

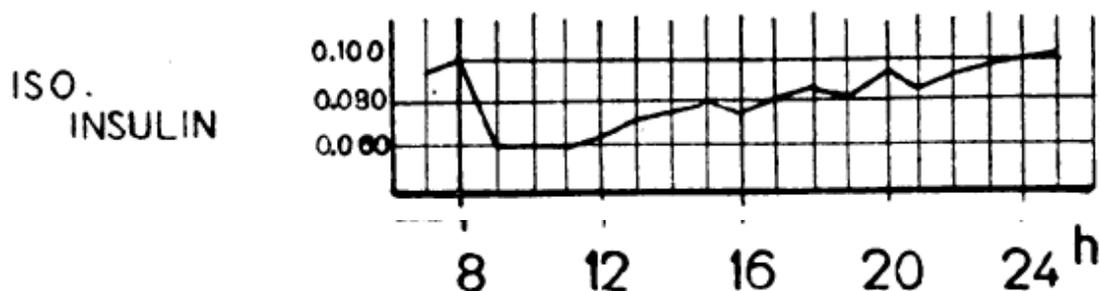


Figura 29: Efecto de la Iso-insulina (Laboratorios Novo) en voluntarios sanos. Pico a la hora y cese de acción a las 16 horas (Gerritzen, 1952).

Finalmente no duró mucho en el mercado. La competencia tenía la NPH. Además el camino de Novo viró hacia el grupo de las insulinas Lente, de las que hablaremos posteriormente.

6.3.37. MEZCLAS COMERCIALES

Evidentemente, se comercializaron en el mismo vial mezclas de insulina regular con otras más lentas, buscando el sinergismo entre ambas (Gerritzen, 1952). Este tipo de proceder ha pervivido hasta nuestros días, siguiendo en el mercado las mezclas de insulina rápida con intermedia o larga: Eso sí, de insulina humana o de análogos.

Curiosamente, la duración de la acción de la mezcla se atribuía al contenido en insulina regular, comprobándose que era más larga en la que tenía una mayor cantidad de ésta (figura 30). Esto se atribuía a que una cantidad superior de insulina rápida iba a producir una mayor disminución de la glucemia durante las tres primeras horas, tomándose más tiempo sus valores para volver al punto de partida con la 3:1 que con las mezclas 2:1 y 1:1, pues al organismo le cuesta más vencer a la hipoglucemia con sus mecanismos contrarreguladores (Gerritzen, 1952). Curiosamente hoy en día la suposición es a la inversa, probablemente debido a que se manejan gráficas que reflejan los niveles de insulina y no los de la glucemia, gráficos que no tienen en cuenta los mecanismos contrainsulares antes referidos.

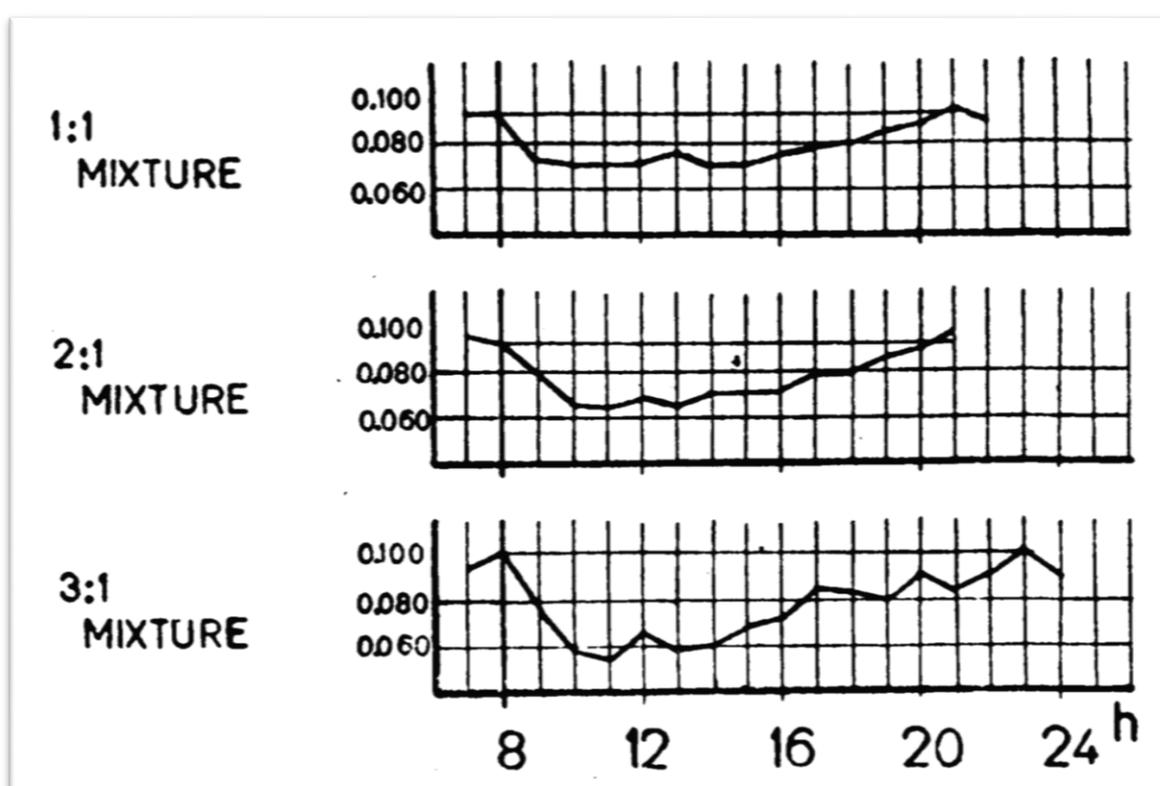


Figura 30. Efecto de las mezclas comerciales (Laboratorios Organon) en voluntarios sanos (Gerritzen, 1952).

6.3.38. INSULINAS LENTE

En 1952 Novo formula las insulinas denominadas “**Lente**”, tanto de origen porcino como bovino, mediante la adición de zinc para dotar de una acción prolongada a la insulina (Gualandi-Signorini y Giorgi, 2001). En 1953 estarían en el mercado europeo (Hale, 2002) y en 1954 en el estadounidense (Slayton *et al.*, 1955). Eso suponía que,

en su fabricación, ya se tenían que amoldar al nuevo estándar de insulina, el “Third International Standard For Insulin”. Este determinó que debía de haber 24,5 unidades por mg y la nueva unidad internacional se definió como la actividad contenida en 0,04082 mg (Miles *et al.*, 1952). Posteriormente se cambiaría a 24 unidades, o sea 0,04167 mg (Litter, 1980).

Se trataba de una serie de preparaciones que se lograban sin añadir proteínas externas ni compuestos sintéticos alguno (Goth, 1975). Se crearon mediante complejas suspensiones neutras de insulina con pequeñas cantidades de iones de zinc. La duración de la acción de los miembros de la familia de insulinas Lente venía determinada por el estado físico, el tamaño y el contenido de zinc de las partículas de insulina de zinc suspendidas (Owens, 2011).

Fundamentalmente contenían insulina precipitada con zinc y resuspendida en un tampón de acetato. Nunca se debía emplear fosfato para tal fin y, precisamente, en esto se basaban. La duración de la acción hipoglucémica dependía principalmente del tamaño y forma de las partículas de insulina (Nabarro y Stowers, 1953). El fosfato usado como buffer en la insulina protamina zinc tiene una mayor afinidad por el zinc que por la insulina. Por ello no era el ideal para prolongar el efecto de la insulina (Holcomb *et al.*, 1954).

El mérito de **Knud Hallas-Møller, Jørgen Schlichtkrull y Karl Pedersen**, sus descubridores (Hallas-Møller *et al.*, 1952) (figura 31), estuvo en haber podido demostrar que la insulina es poco soluble al pH de la sangre cuando se la pone en contacto con pequeñísimas cantidades de zinc, pero siempre y cuando no estén presentes los aniones fosfato y citrato. En un medio exento de estos aniones, la insulina precipita a un pH de 5,3 mientras que es perfectamente soluble al pH de la sangre. En el mismo medio, la adición de 2 mg. de cloruro de zinc a 1.000 unidades de insulina aumenta la zona de precipitación de ésta hasta el punto de que se hace poco soluble al pH del plasma, tanto sanguíneo como celular. Si se añaden al medio los iones fosfato y citrato, éstos neutralizarían el zinc e impedirían su unión con la insulina. Resulta, por lo tanto, que la protamina y las sustancias similares no son indispensables para conseguir la insolubilidad de la insulina al pH de la sangre. Bastan cantidades mínimas de zinc (de alrededor de 0,5 mg. por cada 1.000 unidades ya valdrían) para lograr unas suspensiones estables de insulina pura al pH sanguíneo, tanto en forma amorfa como cristalina (Hallas-Møller, 1956). En resumen, que se basaban en algo tan simple como el cambio de tampón.

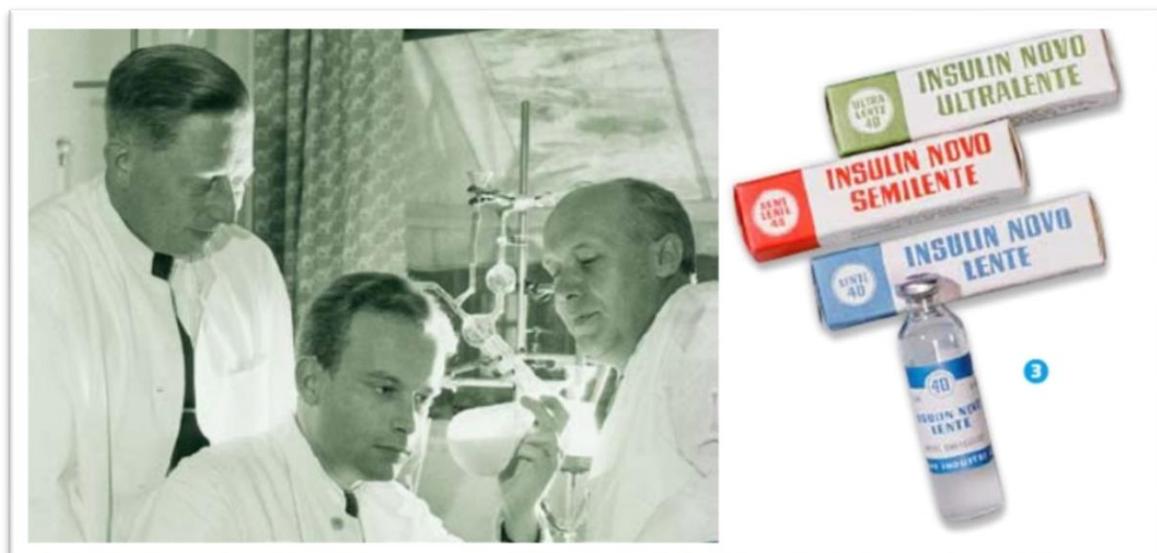


Figura 31: Los tres inventores de las insulinas Lente. De izquierda a derecha Knud Hallas-Møller, Jørgen Schlichtkrull y Karl Pedersen (cortesía de Novo Nordisk).

La acidez de la preparación era de, aproximadamente, un pH de 7,2. El producto contiene acetato de sodio como tampón en una concentración del 0,16 %, cloruro sódico en una concentración del 0,7 % y, como conservante, metil-p-hidroxibenzoato en una concentración de, aproximadamente, un 0,10 % (Fisher, 1955).

Posteriormente, empleando la recristalación de esta insulina en tres ocasiones seguidas se lograba la forma cristalina, con una acción mucho más retardada que la forma amorfa. Se la denominó "**ultralente**" (Nabarro y Stowers, 1955). Por su parte a la forma amorfa se le denominó "**semilente**". Se dejó el nombre de "**lente**" a la mezcla de semilente y ultralente en la proporción de 3 a 7 (Rodríguez-Miñón, 1954) (tabla 5).

Tabla 5. Características de las insulinas Lente (modificada de Nabarro y Stowers, 1953).

Nombre Danés	Nombre británico	Duración	Concentración
Semilente	Suspensión de insulina Zn (amorfa).	12-16 horas.	40 U/ml.
Lente	Suspensión de insulina Zn.	24 horas.	40 y 80 U/ml.
Ultralente	Suspensión de insulina Zn (cristalina).	> 30 horas	40 U/ml.

Como ya se mencionó, en 1953 Novo tenía en el mercado la insulina Lente, la primera comercializada de este grupo. Llegaría a suponer, durante unos años, la tercera parte de la producción de insulina a nivel mundial (Novo Nordisk A/S, 2011). Lograba una acción de, al menos, 24 horas sin hipoglucemias nocturnas (Lawrence y Oakley, 1953). Su perfil era tal que había autores que preconizaban que, con su comercialización, deberían desaparecer la PZI y la insulina globina (Oakley, 1953). Otros afirmaban que de haberse descubierto la primera nunca habrían salido al mercado las demás insulinas de depósito (Colwell, 1955) pues todas llevaban otra proteína a mayores de la insulina (Slayton *et al.*, 1955). Para algunos autores mejoraba en gran medida las fluctuaciones que producían las insulinas disponibles hasta la fecha en el perfil glucémico del diabético (Beaser, 1954). No obstante, los cristales que forman las insulinas Lente son bloques cuboidales que, si bien dan como resultado un tiempo de acción prolongado, tienden a alinearse en grupos regulares causando, en ocasiones, atascos en los dispositivos de administración de la insulina (Strakosch, 2004). Además, los niveles de insulina en la sangre se mantenían hasta unas 24 horas, pero de una forma muy voluble, por lo que la secreción basal se imitaba de una forma muy inconsistente (Binder *et al.*, 1984). Esto era debido a la gran variabilidad en el tamaño de los cristales a los que antes nos hemos referido (Monnier y Colette, 2014).

Más adelante se comercializaron las otras dos. La **Semilente** tenía una acción similar a la de la insulina soluble, pero con una duración algo más larga. La **Ultralente** tenía una acción más prolongada que la de la insulina protamina zinc, pero cuando se utilizaba sola rara vez controlaba la glucemia en la primera parte del día, ya que su inicio de acción era retardado. Sin embargo, tenía la ventaja de que se le podía combinar con una pequeña dosis de Semilente sin perder el efecto de ninguna de ambas, evitando así la necesidad de dos inyecciones separadas. De esta forma, en una proporción 3 a 7, la insulina denominada **Lente**, como hemos dicho la primera en comercializarse, parecía tener una acción similar a la de una mezcla de insulina soluble y de insulina zinc protamina. Por lo tanto, gozaba de la ventaja de evitar el problema de la necesidad de preparar una mezcla de este tipo por parte del paciente. Además, parecía ejercer una acción más uniforme que si la mezcla la hacía el paciente de forma manual (Murray and Wilson, 1953; Izzo, 1956). Comercialmente se empleó con el nombre Monotard® (Novo; 30 % amorfa y 70 % cristalina). Después de la inyección subcutánea su acción comenzaba entre 1 a 2 horas, con un efecto máximo entre las 4 y las 15 horas y una duración de su acción de unas 24 horas. Su comienzo de acción tan diferido exigía pincharse una hora antes de desayunar (Nabarro y Stowers, 1953).

El grupo de insulinas Lente apenas producía fenómenos de alergia local (Murray and Wilson, 1953), cosa que era frecuente con la PZI y con la insulina globina, lo que se debía al llevar añadidas proteínas extrañas (Nabarro y Stowers, 1953). No obstante, algunos pacientes, en especial los niños, sentían frecuentemente una sensación de discomfort en el punto de inyección, probablemente debido a los conservantes empleados (Slayton *et al.*, 1955).

Las indicaciones de este grupo de insulinas en el momento de su comercialización eran (Nabarro y Stowers, 1953):

- ✓ Control deficiente con la insulina que usaba habitualmente el paciente.
- ✓ Pacientes que necesitan inyecciones matutinas y nocturnas de insulina.
- ✓ Pacientes que requerían PZI e insulina soluble por la mañana, pues tenían que hacerlo en inyecciones separadas.
- ✓ Pacientes que mostraban reacciones alérgicas a otros tipos de insulina.

Evidentemente también tenían sus contraindicaciones, que eran (Nabarro y Stowers, 1953):

- ✓ Los diabéticos "frágiles", cuyos requisitos de insulina varían día a día o incluso durante el mismo día. Éstos normalmente se controlarán mejor con inyecciones tanto matutinas como nocturnas de otras insulinas.
- ✓ Los pacientes que necesitan más de 80 unidades al día de una mezcla. Al estar inicialmente sólo disponible la concentración de 40 unidades por mililitro la cantidad de líquido a inyectar era muy grande.

Existían datos que indicaban que, con el conjunto de estas tres insulinas, se podía controlar a cerca de un 90 % de los diabéticos (Stowers y Nabarro, 1953), incluyendo a aquellos previamente mal controlados con otra insulina u otras mezclas (Melton, 1954). Incluso se llegaba a controlar al 80 % de los diabéticos severos (Hallas-Møller *et al.*, 1954). Algunos autores como Jersild (1956) encontraron, revisando a 1.000 pacientes, un control muy satisfactorio en prácticamente todos. Un 96% estaba con una sola inyección diaria y el resto con dos inyecciones. El problema era que en su serie la proporción de mujeres de 50 a 70 años era relativamente alta y la mayoría sus pacientes tenían sobrepeso. Además, el autor era el director del principal hospital de Copenhague, país sede de Novo, y realizó el análisis de los mismos pacientes que previamente había publicado con los descubridores de esta insulina (Hallas-Møller *et al.*, 1954). En esta ocasión no se les menciona como autores del artículo, posiblemente para que el lector no relacionara estos resultados con el fabricante. Hoy en día esto sería imposible pues es obligatorio hacer una declaración

de las fuentes de financiación de los estudios y de las relaciones de los autores con las farmacéuticas.

Este buen resultado con una sola inyección diaria inicialmente se hacía extensivo a los niños diabéticos en los que, además, se encontraban muy pocas reacciones locales (Engleson, 1953; Wolff and Maddison, 1955). No obstante, en este último punto, el tiempo les fue quitando la razón, pues se observaba un exceso de problemas de control nocturno en los pacientes de edad pediátrica, tornando de nuevo la indicación al combinado de insulina rápida con NPH (Chance, 1969) que, posteriormente, pasaría a ser la de múltiples dosis de insulina rápida y una de NPH por la noche (Tucker, 1977), lo que hacía que la progresión de la retinopatía fuera más lenta (Eschwege *et al.*, 1979).

Por su parte, Lancaster y Murray (1958) obtuvieron un control satisfactorio en el 82,5% de un total de 135 pacientes nuevos y en el 64,7% de 201 pacientes que habían recibido previamente otra forma de insulina. Estos autores destacaban el hecho de que las infecciones intercurrentes ocurrían más fácilmente que con otras insulinas, necesitando durante las mismas ser tratados con dos inyecciones diarias. También se pudo constatar, en otra serie, cómo estando inicialmente un 67 % de los pacientes bien controlados con una inyección diaria de Lente, este porcentaje bajaba a un 42 % a los cinco años. De esa forma precisaban una segunda inyección, esta vez de Semilente, llegando entonces a un buen control en un 70%. Además, se constataba que el control era peor en los casos más jóvenes, en los de más años de evolución, en los no obesos y en los que necesitaban más de 60 UI diarias de insulina (figura 32) (Ferguson *et al.*, 1964).

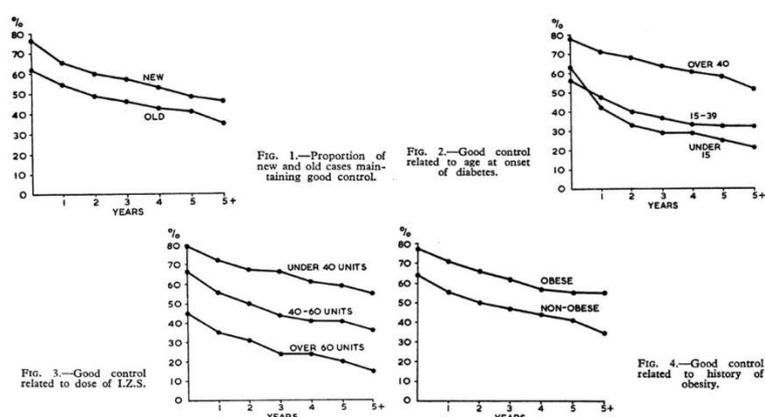


Figura 32: Control con insulina Lente a lo largo de los años de empleo según las características clínicas del paciente (Ferguson *et al.*, 1964).

Sin embargo, en un estudio en Escocia (Buchanan e Imrie, 1964) encontraron que sólo el 47,6 % de 238 pacientes con Lente estaban bien controlados al año. También se lograba controlar peor a los más jóvenes, a los que necesitaban más de 40 U al día y a los que presentaban una diabetes de larga evolución. El cuadro mejoraba al algo al añadir en éstos dos dosis de insulina rápida, pero tampoco se acercaba a lo ideal. También en este caso debemos valorar los resultados desde la perspectiva de que provenía del Reino Unido, patria de la insulina globina, competencia de Lente.

No obstante, en otro trabajo, sobre 141 pacientes, a los seis meses de estar con el tratamiento el control con Lente fue satisfactorio en 117 (83%). Comparado con el control previo con otras insulinas 51 (36%) mejoraron, 66 (47%) permanecieron sin cambios y 24 (17%) empeoraron (figura 33) (Spencer y Morgans, 1956). En conjunto sólo salía una mejora neta en un 19 %. Curiosamente dentro del grupo de insulinas previas a comparar no se incluía la insulina NPH ni la mezcla de ésta con insulina rápida, lo que podía haber alterado los resultados y hacerlos aún más neutros.

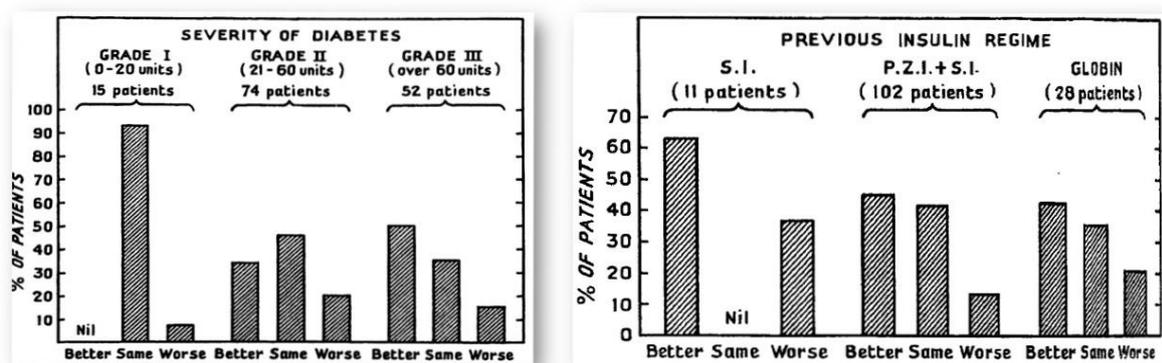


Figura 33: Grado de control que se lograba al pasar a insulina Lente en función del grado de diabetes y del tratamiento previo (Spencer y Morgans, 1956). (S.I.= insulina rápida soluble, P.Z.I.=insulina protamina zinc).

Los autores que compararon la insulina Lente con la NPH no encontraron grandes diferencias entre ambas. Es más, el control en los momentos extremos del día, lo que refleja la rapidez y la durabilidad del efecto, era mejor con la segunda (figura 34) (Slayton *et al.*, 1955)

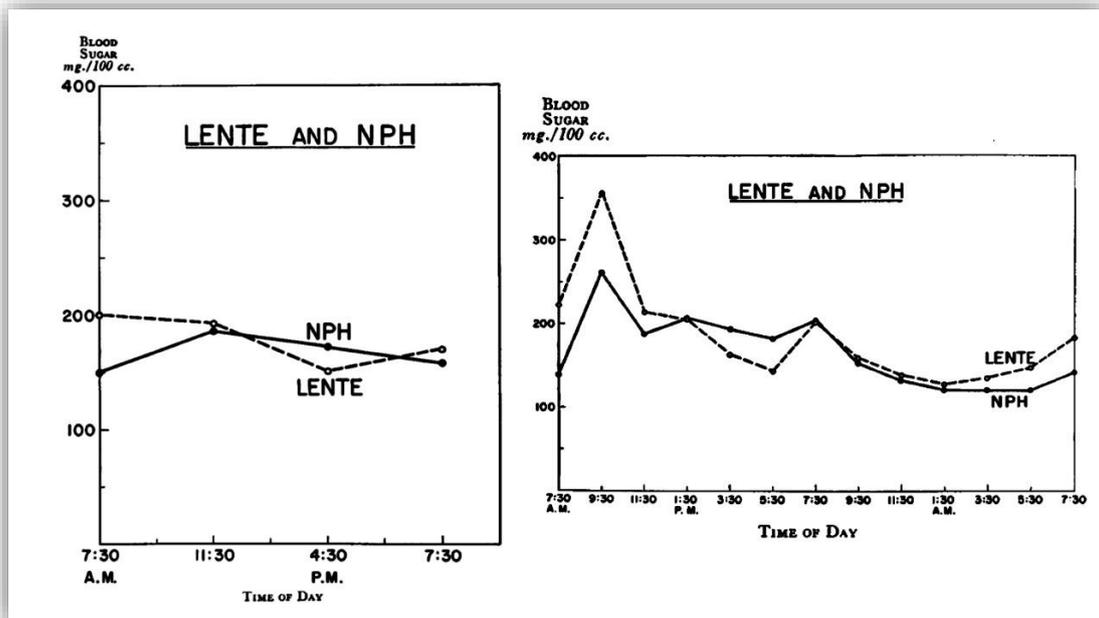


Figura 34: Comparación de Lente y NPH. A la izquierda control a largo plazo con dosis individualizadas y a la derecha con la misma dosis. Estudio realizado con datos pareados (se aplicaba primero una de las insulinas y luego la otra a los mismos sujetos) (Slayton *et al.*, 1955).

En nuestro país la insulina Lente no era superior a la PZI, pues se necesitaba una mayor cantidad para el control de la glucemia con una sola inyección. Probablemente esto era debido a nuestras tan particulares costumbres en los horarios de las comidas (Rodríguez-Miñón, 1954). Además, había que tener presente que cuando se cambiaba a esta insulina el paciente se descompensaría durante tres o cuatro días. Había que ser paciente a la hora de realizar cambios en la dosificación y, por lo general, se necesitaba al menos un mes para lograr el control de la glucemia. A mayores había que tener en cuenta que con ella era frecuente que, cuando se presentaba una hipoglucemia, esta fuera oligosintomática. Esto hacía que en muchas ocasiones que se tratara de una forma tardía (Rodríguez-Miñón y Garrigues, 1959).

Aproximadamente entre un 35 % (Gurling *et al.*, 1955) a un 75% (Stowers y Nabarro, 1955) de los diabéticos se beneficiaban de la transferencia desde otras insulinas al grupo Lente. **Los pacientes que previamente estaban con una sola inyección de insulina protamina zinc (PZI) necesitaban un aumento del 40 % de la dosis**, aumento menor si empleaban otras insulinas, como la insulina globina. Los pacientes que tenían pautadas de dos a tres inyecciones de insulina soluble o rápida

se equilibraban con una dosis total similar (Stowers y Nabarro, 1955). Con la NPH el intercambio también era unidad a unidad (Haunz, 1955). Otros autores concluían que, globalmente, en el 56 % de los pacientes la dosis requerida era de, aproximadamente, un 10 % más que con su anterior insulina, un 28 % necesitaron de un 10 a un 50 % más y, finalmente, en el 8 % el aumento se situaba entre el 50 y el 100 % (Spencer y Morgans, 1956).

No obstante, los diabéticos que requerían grandes dosis de insulina soluble no solían estar bien controlados con una sola inyección de Lente. Además, tampoco era el tratamiento adecuado para el coma, el precoma o la cetosis grave, donde era claramente mejor la insulina regular (Oakley, 1954; Ferguson, 1954). Así pues, la insulina soluble seguía siendo indispensable durante las operaciones quirúrgicas, en el embarazo, en los períodos de cetosis severa y en el tratamiento del coma diabético (Gurling *et al.*, 1955).

Eso sí, había que tener siempre en cuenta que las suspensiones de estas insulinas Lente no se podían mezclar con insulina soluble o regular. El ácido de esta última supera al débil tampón de las suspensiones y, al disminuir el pH, podía modificar el tamaño de las partículas y provocar alteraciones inesperadas en la duración de la acción de las insulinas Lente (Nabarro y Stowers, 1955). Incluso la insulina rápida se podía transformar en ultralente perdiendo su capacidad de una acción casi inmediata (Haunz, 1955). De esta forma se observaba un descontrol de la glucemia durante las primeras horas (figura 35) (Holcomb *et al.*, 1954).

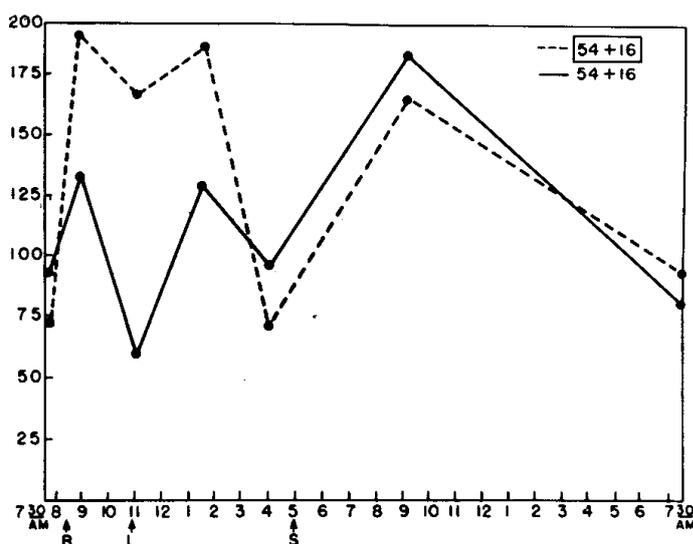


Figura 35: Efecto de la insulina Lente junto a insulina regular. En trazo discontinuo representa ambas en la misma jeringuilla y en trazo continuo en dos inyecciones separadas. Obsérvese el peor control obtenido con la mezcla (Holcomb *et al.*, 1954).

Para solventar el problema se trabajó con combinaciones de dos de los tres miembros de la tríada de insulina Lente, que si se podían mezclar en la misma jeringa (Whitehouse *et al.*, 1961), para aquellos pacientes cuya diabetes no se controlaba con una única inyección diaria. Cuando era deseable una mayor actividad hipoglucémica durante la noche se usaban la Ultralente con la insulina Lente. Por su parte, la Semilente se usaba con la Lente cuando se precisaba una mayor actividad hipoglucémica durante el día. Evidentemente se inyectaban por la mañana. Incluso se comunicó que estas mezclas tenían el potencial de controlar a pacientes que no lo lograban con dos dosis de NPH (Robins, 1962).



Figura 36: Primer paso en la producción de insulina, la selección y triturado de los páncreas animales (cortesía de laboratorios Lilly).

Tradicionalmente, la insulina se extrajo de páncreas porcino y / o bovino (figura 36). Los productos resultantes tienen diferentes solubilidades a pH neutro y por lo tanto distintas duraciones, siendo mayor la de procedencia bovina. Las insulinas del tipo Lente capitalizaron esto para lograr una actividad prolongada diferente. Así la preparación de **insulina Lente original** comprendía una mezcla 3:7 de insulina porcina amorfa (Semilente) y partículas cristalinas bovinas (Ultralente), con un tiempo de acción intermedio, similar al de la insulina NPH. **La insulina bovina**

Ultralente comprendía cristales bastante grandes (30 μm) dando como resultado una duración de acción similar a PZI. Ultralente era considerada como la primera preparación de insulina de acción larga real, que requería administración concomitante con una insulina preprandial en los sujetos con diabetes tipo 1 y en aquellos con una diabetes de tipo 2 de un gran tiempo de evolución. Posteriormente se produjeron las preparaciones comerciales tanto de tipo Lente, como Monotard[®], y de un nuevo tipo de insulinas, de las que hablaremos seguidamente, la Rapitard[®], que comprendían un 100 % de insulina porcina y un 25% de porcino junto a un 75% de insulina cristalina bovina respectivamente. Con los distintos orígenes se lograba modificar sus características farmacológicas. A lo largo de este período, también se hicieron constantes esfuerzos para purificar mejor las diversas preparaciones de insulina (Owens, 2011). Al final, con la aparición de estas insulinas, estaban disponibles las reflejadas en las tablas 6, 7 y 8.

Tabla 6. Clasificación de las insulinas en 1953 (Gerritzen, 1953).

Categoría 1: Duración hasta 8 horas	Categoría 2: Duración hasta al menos 10 horas	Categoría 3: Duración hasta al menos 16 horas	Categoría 4: Duración hasta al menos 18 horas
✓ <i>Insulina regular</i>	Con protamina: ✓ <i>Insulina NPH</i>	Insulinas modificadas químicamente: ✓ <i>Di-insulina</i> ✓ <i>Iso-Insulina</i>	Con Protamina y Zinc: ✓ <i>Insulina zinc protamina o PZI</i>
	Sólo con Zn: ✓ <i>Semilente</i> ✓ <i>Insulina Zinc</i>	Adición de oxihemoglobina: ✓ <i>Insulina globina</i>	Sólo con Zinc: ✓ <i>Ultralente</i>
		Con Zinc: ✓ <i>Insulina Lente</i> (mezcla de semilente y ultralente)	

Tabla 7. Propiedades químicas de las insulinas (Fisher, 1955).

	Insulina regular	Insulina globina con zinc	Insulina Protamina zinc	Insulina NPH	Insulina Lente
Forma física	Solución	Solución	Suspensión/ amorfa	Suspensión/ cristalina	Suspensión/ parcialmente cristalina
Acidez	pH 3,0	pH 3,6	pH 7,2	pH 7,2	pH 7,2
Contenido en Zn por 100 Unidades	0,03 g	0,3 mg	0,2 mg	0,03 mg	0,2 mg
Agente modificador por 100 unidades	No	3,8 mg de globina	1,3 mg de protamina	0,5 mg de protamina	No
Agente isotónico	Glicerina	Glicerina	Glicerina	Glicerina y cloruro sódico	Cloruro sódico
Buffer	No	No	Fosfato sódico	Fosfato sódico	Acetato sódico
Conservante	Fenol o cresol	Fenol	Fenol o cresol	m-cresol	Metil-p-oxibenzoato

Tabla 8. Propiedades clínicas de las insulinas (Testa y Meyer, 1996).

Insulinas	Aspecto	Proteínas	Zinc	Buffer	Acción (horas)		
					Inicio	Pico	Duración
Regular (cristalina)	Clara	No	0,01-0,04	No	0,3-0,7	2-4	5-8
Semilente	Turbia	No	0,20-0,25	Acetato	0,5-1,0	2-8	12-16
Isófana (NPH)	Turbia	Si	0,01-0,04	Fosfato	1-2	6-12	18-24
Lente	Turbia	No	0,20-0,25	Acetato	1-2	6-12	18-24
Ultralente	Turbia	No	0,20-0,25	Acetato	4-6	16-18	20-36
Protamina Zinc	Turbia	Si	0,20-0,25	Fosfato	4-6	14-20	24-36

En 1967 los americanos demostraron que la insulina de origen bovino producía más alergias que la de porcino. No hay que olvidar que ésta tiene tres aminoácidos diferentes con la insulina humana, mientras que la porcina sólo uno. Por esa razón compañías como Novo empezaron a trabajar mayoritariamente con insulinas porcinas al 100 % (Novo Nordisk A/S, 2011).

Las insulinas más utilizadas en la terapéutica, la bovina, porcina y humana, presentan diferencias en sus secuencias de aminoácidos. Así la insulina bovina contiene Alanina en lugar de Treonina en la posición 8 y Valina en lugar de Isoleucina en la posición 10 de la cadena A. Además ambas, la insulina bovina y la porcina,

difieren de la insulina humana por una Alanina en lugar de Treonina en la posición 30 de la cadena B (esta es la única diferencia entre la insulina porcina y la humana). Las posiciones de los tres puentes, las secuencias N y C-terminales en la cadena A y los residuos hidrofóbicos en la región C-terminal de la cadena B son invariantes entre las diferentes especies animales (Testa and Meyer, 1996). Por ello se recomendaba encarecidamente no cambiar a un paciente su insulina de un origen a otro, pues no era igual el ajuste con insulina porcina que con insulina bovina (United States Pharmacopeial Convention *et al.*, 1989).

Durante los años ochenta comenzó la producción comercial de insulina humana, inicialmente derivada semisintéticamente de la insulina porcina mediante un proceso enzimático y, posteriormente, biosintéticamente utilizando la *Escherichia coli* o una levadura, en concreto el *Saccharomyces cerevisiae*. Más tarde, las preparaciones de NPH, Lente, Ultralente y premezcladas se reformularon usando insulina humana. Sin embargo ***tuvieron el hándicap de disminuir drásticamente su tiempo de acción lo que supuso el principio de su fin*** (Owens, 2011).

6.3.39. INSULINA U-500

Es la insulina cristalina regular pero a una concentración de 500 U por ml. La puso en el mercado Eli Lilly and Company en 1952. Era la Iletin U-500®. Su procedencia era bovina. Tres décadas más tarde, en 1980, comercializaron la de origen porcino (Iletin II U-500®). Finalmente, en 1997, las sustituirían por la de origen humano (Humulin R U-500®; en el Reino Unido sería la Actrapid U-500®, de Novo Nordisk, que retirarían voluntariamente en el 2008) (Segal *et al.*, 2010). Esta insulina sigue disponible hoy en día. Eso sí, sólo en los Estados Unidos.

Inicialmente se enfocó para los pacientes que tenían una resistencia a la insulina por vía inmunológica. Se pudo observar que, comparándola con la U-100, aún no habiendo diferencias en la afinidad del anticuerpo por ambas insulinas, se disminuían drásticamente las necesidades de la misma usando la U-500 (Nathan *et al.*, 1981). La aparición de las insulinas menos inmunógenas, primeramente la sulfatada y finalmente la humana, hizo que esta indicación para la U-500 pasara a ser meramente anecdótica.

Por lo tanto se pasó a emplearla sólo en la otra indicación, que eran los pacientes que necesitaban grandes dosis de insulina (Cochran *et al.*, 2005; Segal *et al.*, 2010). Son los diabéticos portadores de lo que se denomina una resistencia severa a la

insulina. Se considera como tal cuando necesitan más de 200 U dos días seguidos. Se puso esta cifra como punto de corte para dicha definición porque se consideraba que era la cantidad de insulina que el páncreas producía en un día. Posteriormente se comprobaría que la cifra real es de 20 a 40 U (Ballani *et al.*, 2006), pero el criterio anterior perduraría hasta nuestros días. En niños el punto de corte es de 3U/kg (Cochran y Gorden, 2008). Realmente esto también incluye a la mayoría de los pacientes que tiene de base un proceso inmunológico frente a la insulina.

Una clara ventaja de la U-500 sobre la insulina U-100 para estos pacientes es la capacidad de administrar grandes dosis con una única inyección de un volumen menor. Éste es generalmente menor de un mililitro, la capacidad de la jeringa de insulina habitual (De la Peña *et al.*, 2011).

No obstante, no es su única ventaja. Es de destacar como su farmacocinética cambia en función del paciente y de la dosis. Así, mientras en los sujetos sanos con dosis bajas no hay apenas diferencias con la U-100, en los pacientes diabéticos y obesos que necesitan grandes cantidades de insulina esto cambia. Entonces es cuando, teniendo un tiempo de inicio y un pico de acción similar a la insulina regular U-100, pasa a tener una duración pareja a la NPH U-100, o sea, de una insulina intermedia (Davidson *et al.*, 2010; Reutrakul *et al.*, 2012). Incluso puede llegar a las 24 horas (Cochran *et al.*, 2005). Por lo tanto, la insulina U-500 tiene un efecto bolo de inicio rápido y un efecto máximo levemente retrasado en comparación con la insulina U-100, pero con un efecto basal con una duración de la "cola" que es considerablemente más largo con las dosis más altas (Segal *et al.*, 2010). Este efecto, dependiente del aumento de la dosis, también se ve en otras insulinas. Así la inyección de 50 U de insulina regular U-100 tiene distinto perfil que la de 20 U (Cochran *et al.*, 2005). La mayor duración dependiente del aumento de la concentración también se ha demostrado con la NPH y la Lente (Jørgensen *et al.*, 2000), pero no se ha plasmado por ahora en ninguna aplicación clínica.

Es curiosa la falta total de documentación existente sobre la U-500 antigua. Tan sólo un artículo en PubMed de una revista mejicana (Hernández Jáuregui, 1959). Extrapolando los datos existentes sobre la actual U-500, de origen humano, decir que con ella la hemoglobina glucosilada disminuye en más de 2 puntos. A cambio se emplean unas 100 U más de insulina al día y hay un aumento de peso de unos 3 Kg, con prácticamente las mismas hipoglucemias (Wafa y Khan, 2006). Logra mantener el control al menos tres años, eso sí, aumentado las dosis en función de las cifras de glucemia. Un aumento que, de media, se sitúa en 100 U/día en este periodo (Dailey *et al.*, 2010). Con ella las hipoglucemias se producen generalmente entre las 18 y las

24 horas de la administración. Se aplican de dos a cuatro dosis al día. Además, es preciso prescribirla en mililitros y no unidades, para evitar los errores de dosificación. De esa forma pueden utilizar las jeringuillas de insulina, por las que le es más fácil al paciente obtener en EE.UU. un reembolso de su seguro que por las de tuberculina, que algunos clínicos aconsejan para su dosificación (Cochran y Gorden, 2008).

Aunque hay autores que defienden que es una fuente de errores de dosificación, muchos más que con la U-100 habitual (Paulus *et al.*, 2016), realmente la tasa de los mismos, calculada a través de los informes remitidos por los profesionales, fue del 0,06%, por lo que se considera un evento infrecuente (Reutrakul *et al.*, 2012). No obstante, para minimizarlos, el fabricante ha puesto en el mercado esta insulina en su formato KwikPen® de pluma inyectora (figura 37) (Eli Lilly and Company, 2016).



Figura 37: Insulina U-500 de Lilly en formato vial de Iletin II® y la actual Humulin R U-500® tanto en pluma KwikPen® como en vial, sólo disponible en EE.UU. (Cortesía de laboratorios Lilly).

A día de hoy la Humulin R® U-500 es eficaz para lograr un mejor control de la glucemia en los pacientes que emplean grandes dosis de insulina. También aumenta su satisfacción y su calidad de vida. A mayores, ofrece un ahorro en el costo, siendo

en la actualidad la unidad de insulina más barata comercializada en viales en EE.UU., viales que son de 20 ml y no de 10 ml como el resto de las insulinas (Reutrakul *et al.*, 2012). Tal vez por ello su uso ha aumentado en un 137% desde junio de 2007 a junio del 2009 (Segal *et al.*, 2010).

6.3.40. LA NUEVA INSULINA RÁPIDA: ACTRAPID®

En 1965 Novo introduce dos nuevas insulinas. La de acción rápida **Actrapid®** y la de acción intermedia **Cristal II**. Nadie había entrado en el campo de las insulinas rápidas en los últimos 30 años. Partieron de la premisa que para muchos pacientes la insulina cristalina o regular, disponible hasta la fecha, tardaba demasiado tiempo en actuar (Schlichtkrull *et al.*, 1965). En poco tiempo hubo una segunda marca comercial, la Insulin Leo Neutral® o Velosulin® (Nordisk) (Montgomery, 1978).

Actrapid®, denominada también **insulina soluble neutra** (Montgomery, 1978), se preparaba a partir de la insulina de cerdo recristalizada y tenía un pH de 7, en el que los cristales de insulina del cerdo son solubles. Tenía una acción más rápida que la insulina soluble ácida, que debe pasar desde el pH de 3 a un pH neutro antes de alcanzar su actividad biológica (Clarke *et al.*, 1965).

La insulina Crystal II tenía la misma composición química e igual pH que Actrapid®, pero se preparaba cristalizando insulina de vaca, aprovechando sus distintas características farmacológicas. Estos cristales, a diferencia de los de la insulina de cerdo, permanecían sin disolver cuando el pH de la suspensión se elevaba a 7. Se absorbían más lentamente después de la inyección subcutánea y tenían una acción temporal intermedia, cuya duración dependía de las propiedades físicas de los cristales y no de la presencia de zinc o de una proteína añadida. De esta manera se lograba una insulina de acción más larga que la insulina cristalina (Clarke *et al.*, 1965). Dado que su comienzo de acción era más lento que la insulina cristalina la preparación comercial Rapitard® lleva una mezcla de Actrapid y Cristal II, en una proporción 25/75 (Lechat, 1980), siendo la primera de origen porcino y la segunda de origen bovino. Con los distintos orígenes se lograba modificar sus características farmacológicas y se lograba una acción mixta en su duración (figura 38) (Clarke *et al.*, 1965; Owens, 2011). En concreto su inicio de acción era a los 30 minutos, su pico entre 3 y 10 horas y su duración de 16 horas (De Palacios Mateos, 1981). Además, también se hicieron esfuerzos para purificar mejor las diversas preparaciones de insulina (Owens, 2011).

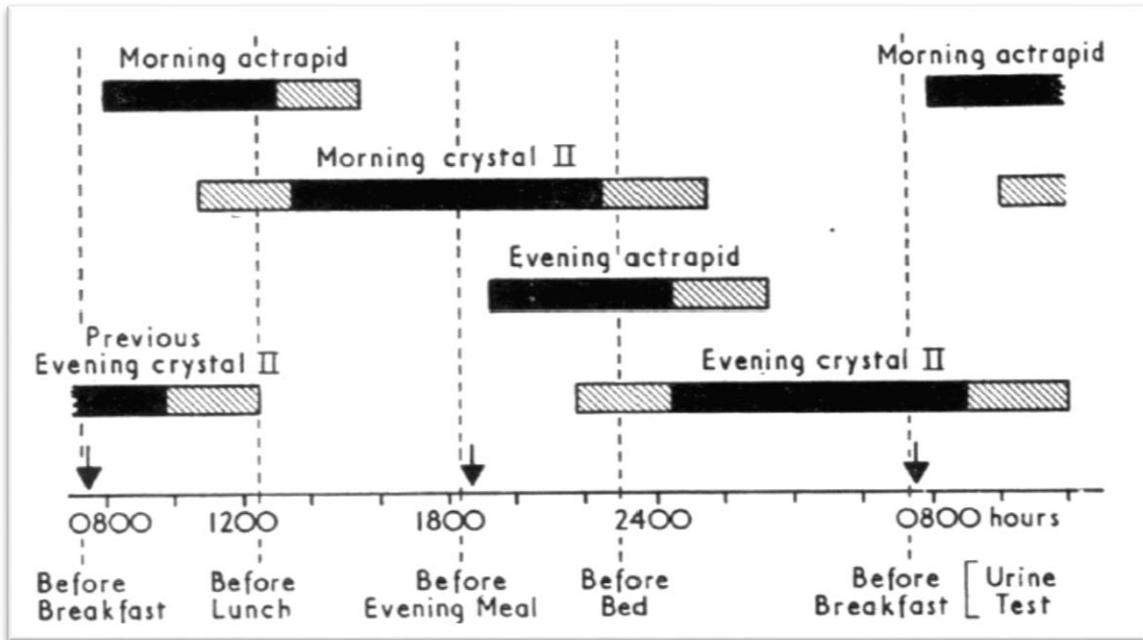


Figura 38: Acción de las insulinas Actrapid y Cristal II (Clarke *et al.*, 1965).

6.3.41. INSULINA SINTÉTICA

En 1953 el bioquímico británico **Frederick Sanger** determinó finalmente, tras 10 años de trabajo, la secuencia de aminoácidos de la insulina bobina (figura 39) (Stretton, 2002). Determinó que poseía dos cadenas, a las que denominó A y B. La cadena A tenía 21 aminoácidos y la cadena B 30. Se unían por dos puentes disulfuro y existía otro de estos puentes entre aminoácidos de la cadena A (Sanger, 1959). Esto le valió el premio Nobel en química de 1958. Tendría que llegar el año 1969 para que la Dra. **Dorothy Crowfoot Hodgkin** describiera finalmente la estructura tridimensional, detrás de la que llevaba muchos años (Páez y Garritz, 2013) (figura 39). Pero ya el conocimiento de la estructura bidimensional, esto es, de la secuencia de aminoácidos, dio pie a una carrera para llegar a la síntesis de la molécula.



Figura 39: Estructura bidimensional de la insulina bovina publicada por Frederick Sanger y tridimensional descubierta por Dorothy Crowfoot Hodgkin.

En 1958, el Instituto de Bioquímica de Shanghai, la Academia China de la Ciencias y la Universidad Perking se proponen ser los primeros en sintetizar insulina. Con el apoyo gubernamental el proyecto comienza en 1959. Era una prioridad nacional para el régimen comunista chino. No hace falta detallar lo que eso suponía para los encargados de la investigación. Un equipo inadecuado, la falta de los reactivos y de las materias primas necesarias hicieron del intento una labor hercúlea, pues se tuvo que trabajar día y noche para lograr cada péptido en las ocho instituciones implicadas. A mayores, en 1963, **Panayotis y Katsoyannis** en Pittsburgh (EE.UU) y **Helmut Zahn** en Aachen (Alemania) informaron que habían logrado sintetizar la insulina, aunque ésta tenía una débil actividad. Esto supuso una gran presión sobre los investigadores chinos. Debían de ser los primeros en sintetizar una insulina con una actividad completa. El profesor **Qiyi Xing** de la Universidad Perking uniría su grupo al del Profesor **Wang** en Shanghai y serían los responsables de la síntesis de la cadena A. El profesor **Jingyi Niu**, del Instituto de Bioquímica de Shanghai, y su equipo completarían la síntesis de la cadena B y el equipo del profesor **Chenglu Zhou**, del Instituto de Bioquímica de Shanghai, sería el responsable de la recombinación de las cadenas A y B. En agosto de 1964, el profesor Jingyi Niu sintetizó con éxito la cadena B y la ensambló con la cadena A de la insulina natural bovina, logrando una insulina semisintética. En mayo de 1965, el equipo combinado de la Universidad de Perking y el Instituto de Química Orgánica de Shanghai

concluyeron la síntesis de la cadena A de la insulina. Al mismo tiempo, el equipo del profesor Chenglu Zhou aumentó el rendimiento de la recombinación de la cadena A y B (Instituto de Bioquímica, Academia China de Ciencias, 1966). Finalmente, la insulina bovina totalmente sintética comenzó a producirse el 17 de septiembre de 1965. Era la primera insulina sintética a nivel mundial, en su forma cristalizada, con plena actividad biológica, inmunogenicidad y propiedades químicas iguales a la original (Sun, 2015).

6.3.42. INSULINAS ULTRAPURIFICADAS

Un gran problema a nivel de la calidad del producto era tanto la falta de pureza, teniendo la mayoría de las insulinas lentas insulina rápida en el sobrenadante, como la variabilidad de la insulina en función del fabricante (tabla 9) (Calvet *et al.*, 1941).

Tabla 9: Cantidad real de insulina por mililitro de las diferentes insulinas lentas (Calvet *et al.*, 1941)

Tipo de insulina	Cantidad de insulina real por ml de un vial de 40 UI	
	Insulina lenta.	Insulina rápida.
Protamina Zinc Insulina (PZI)	37 UI	3 UI
Histona Zinc Insulina	30 UI	10 UI
Globina Zinc Insulina	25,5 UI	14,5 UI

El problema también ocurría con la NPH. Gerritzen, en 1952, comprobó que teniendo una duración igual, de unas 11 horas, la fabricada por Lilly tenía su pico a las tres horas y la procedente de los laboratorios Organon lo hacía a las cuatro horas. A mayores, las sospechas con las diferencias entre las marcas comerciales surgían cuando al cambiar de una a otra se alteraba el control de los diabéticos juveniles, pudiéndose observar como, en determinados lotes comerciales, había un exceso de insulina libre en el sobrenadante, que pudiera ser causado por las condiciones térmicas durante su almacenamiento. De todo ello derivan las diferentes propiedades en cuanto a su máxima de acción y la duración del efecto que le atribuyen a la NPH las diversas fuentes y autores (tabla 10) (Belmonte *et al.*, 1971). Desgraciadamente esta variabilidad entre viales y lotes no ha desaparecido y se ha

podido constatar que, a día de hoy, los fabricantes no aportan el mínimo establecido de 95 U/ml para la insulina U-100, variando en el análisis aleatorio de viales producidos por las farmacéuticas Novo-Nordisk y Lilly de insulina humana, de venta en EE.UU., entre 13,9 y 94,2 U/ml, con una media de 40,2 U/ml, algo vergonzoso para el siglo XXI (Carter y Heinemann, 2017).

Tabla 10: Características de la insulina NPH según diversas fuentes (Belmonte *et al.*, 1971).

FUENTE	Máxima acción (horas)	Duración (horas)
Joslin (1959)	8-10	26-30
Danowski (1957)	10-18	24+
Dunacn (1964)	8-16	28-30
Nelson y Vaugman (1969)	8-10	28-30
Lilly (1967)	8-20	24-28
Connaught (1971)	7-11	20-24

En concreto, del total del vial se calculaba que un 92 % era insulina, un 6 % pro-insulina, un 1 % agregados de insulina y otro 1 % impurezas (De Palacios Mateos, 1981). En 1973 Novo introduce las insulinas ultrapurificadas, para evitar tanto las alergias que producían esas impurezas que iban en las soluciones como la presencia de otras formas de insulina. Las denominaron monocomponente (MC), y el nombre comercial de la insulina Lente ultrapurificada era Monotard® (Novo Nordisk A/S, 2011).

El problema de la alergia, aunque infrecuente, era de gran importancia, pues es un fármaco necesario para la supervivencia del paciente. Eso sí, existía un método ingenioso para solventarlo, que era simplemente hervir la insulina durante 30 minutos. De esta forma disminuía la alergia de una forma importante aunque había que tener en cuenta que la insulina perdía aproximadamente un 15 % de su actividad. Este sistema era válido tanto para la insulina cristalina (Dolger, 1952) como para la insulina Lente (Beaser, 1954). Es evidente que el proceso inactivaba antes a las impurezas que a la insulina, culpables del cuadro en la gran mayoría de las ocasiones. Dichas impurezas eran las que desaparecían con las formas

ultrapurificadas. Novo había demostrado que las proteínas que acompañaban a la insulina, un conjunto de hormonas pancreáticas como el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), el glucagón, el polipéptido pancreático y la somatostatina (Bloom *et al.*, 1976), eran la mayor fuente de problemas inmunológicos (Sönksen, 1977).

Por medio de diferentes técnicas de purificación logran reducir estas “impurezas” a menos de 20 partes por millón. La competencia estadounidense de Lilly y la danesa de Nordisk rápidamente adoptaron sus propias técnicas para la depuración de la insulina, cosa que, lamentablemente, no hizo ni la industria británica ni otros fabricantes estadounidenses (Sönksen, 1977). Esto produjo una generalización de su empleo. Numerosos autores confirmaron que, como se sospechaba, las MC eran débilmente inmunogénicas (Schlichtkrull *et al.*, 1972; Bruni *et al.*, 1973; Deckert *et al.*, 1974). Incluso, cuando se administraban a diabéticos que ya tenían anticuerpos de insulina, el título de los mismos disminuía gradualmente, lo que se asociaba a una necesidad de una menor dosis de insulina (Oakley, 1976; Heding *et al.*, 1980).

Su aparición hizo que, al final de los años 70, estuvieran comercializadas las insulinas que se muestran en las tablas 11, 12 y 13. Como se puede observar la mayoría entraba dentro de las purificadas. Parece una premonición, pero todos los laboratorios que se decantaron por las insulinas purificadas siguen fabricándola, mientras que Squibb, que no lo hizo, ya ha abandonado ese campo.

Tabla 11. Insulinas de acción rápida (aparición del efecto en 1 a 4 horas, duración 5 horas) comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70 (Campbell, 1981)

Nombre comercial	Especie de procedencia	Impurezas ppm
Insulina regular Actrapid (Novo)	Porcina	<10
Insulina rápida Velosulin (Nordisk)	Porcina	<10
Regular Iletin I (Lilly)	Tenera y porcina	<50
Regular Iletin II (Lilly)	Porcina	<10
Regular Iletin II (Lilly)	Tenera	<10
Insulina regular (Squibb)	Porcina	>10.000
Semilente Iletin I (Lilly)	Tenera y porcina	<50
Insulina semilente (Squibb)	Tenera	>10.000
Suspensión Semitard insulina-zinc (Novo)	Porcina	<10

(ppm= partes por millón).

Tabla 12. Insulinas de acción intermedia (aparición del efecto en 1 a 4 horas, duración 12 a 28 horas) comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70 (Campbell, 1981).

Nombre comercial	Especie de procedencia	Impurezas ppm
Goblin Zinc (Squibb)	Tenera	>10.000
Insulatar NPH (Nordisk)	Porcina	<10
Suspensión Lentard Insulina-Zinc (Novo)	Tenera y porcina	<10
Lente Iletin I (Lilly)	Tenera y porcina	<50
Lente Iletin II (Lilly)	Porcina y tenera	<10
Insulina lente (Squibb)	Tenera	>10.000
Mixtard, Insulina NPH + Regular (Nordisk)	Porcina	<10
Suspensión Monotard Insulina-zinc (Novo)	Porcina	<10
NPH Iletin I (Lilly)	Porcina	<50
NPH Iletin II (Lilly)	Tenera y porcina	<10
Insulina NPH (Isophane Squibb)	Tenera	>10.000

(ppm= partes por millón)

Tabla 13. Insulinas de acción prolongada (aparición del efecto en 4 horas, duración más de 24 horas) comercializadas en EE.UU. a finales de los años 70 (Campbell, 1981).

Nombre comercial	Especie de procedencia	Impurezas ppm
Protamina Zinc Iletin I (Lilly)	Tenera y porcina	<50
Protramina Zinc Iletin II (Lilly)	Porcina y tenera	<10
Insulina Protamina Zinc (Squibb)	Tenera	>10.000
Ultralente Iletin I (Lilly)	Tenera y porcina	<50
Insulina Ultralente (Squibb)	Tenera	>10.000
Suspensión Ultratard Zinc (Novo)	Porcina	<10

(ppm= partes por millón).

Además, la insulina altamente purificada disminuye la aparición de las lipoatrofias (Riddle, 1983) e, incluso, estimula la reacumulación de la grasa subcutánea cuando se inyecta en las áreas lipoatróficas, mejorando este tan indeseado efecto

secundario (Bruni, 1973; Teuscher, 1974), siendo este otro motivo más para su empleo. Éste no era un problema baladí, pues se presentaba en el 55 % de los diabéticos que usaban insulina (Beaser, 1954). Así mismo, se comprobó que en muchas ocasiones el número de unidades a emplear era menor con las insulinas purificadas de cerdo que con la insulina concencional (figura 40) (Wright *et al.*, 1979).

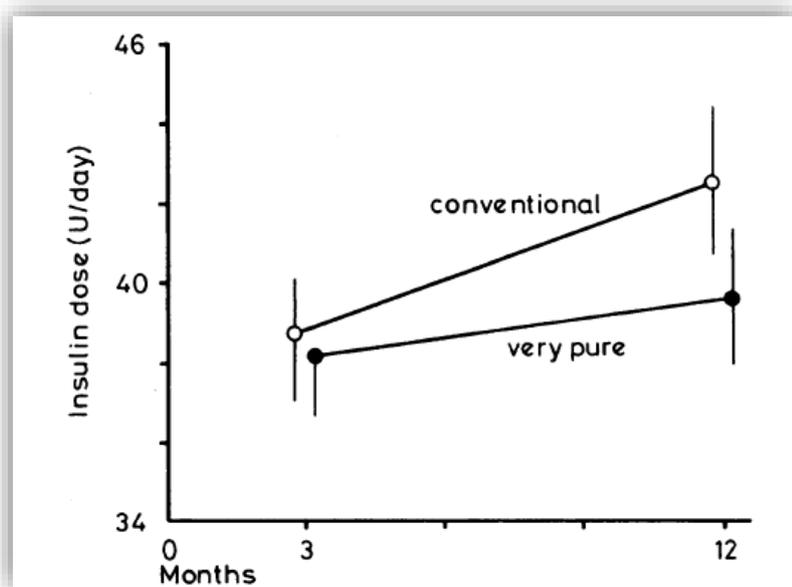


Figura 40: Unidades de insulina empleadas a lo largo de 12 meses cuando la insulina era estándar o monocomponente (Wright *et al.*, 1979).

No obstante, las insulinas ultrapurificadas no solventaban el problema de los márgenes de tolerancia que se permitían tanto en el pH, el contenido de nitrógeno y la cantidad de zinc para una misma insulina, que variaban incluso en la misma marca de un lote a otro (Unites States Phamacopeial Convention *et al.*, 1989) (tabla 14). Unos márgenes demasiado amplios, probablemente culpables de la variabilidad que hemos reflejado al comienzo de este capítulo. Este es un problema que acarrear muchos de estos fármacos aún en nuestros días, como ya hemos expuesto anteriormente.

Tabla 14: Variabilidad admitida en las distintas insulinas. Obsérvese como algunas de las denominaciones podían dar lugar a frecuentes confusiones entre insulinas muy distintas en sus características (Unites States Phamacopeial Convention *et al.*, 1989).

Tipo de insulina	pH	Nitrógeno	Zinc
<i>Insulina regular</i> <i>Insulina Zn cristalina</i>	Ácida: 2,5 a 3,5 Neutra: 7,0 a 7,8	<0,7 mg/100 U	10-40mg/100 U
<i>Isófana o NPH</i>	7,0 a 7,8	<0,85 mg/100 U	0,01-0,04mg/100 U
<i>Insulina lente o insulina zinc</i>	7,0 a 7,8	<0,7 mg/100 U	0,12-0,25mg/100 U
<i>Insulina ultralenta o insulina zinc cristalizada</i>	7,0 a 7,8	<0,7 mg/100 U	0,12-0,25mg/100 U
<i>Insulina semilenta o insulina zinc amorfa</i>	7,0 a 7,8	<0,7 mg/100 U	0,12-0,25mg/100 U
<i>Insulina PZI o insulina zinc-protamina</i>	7,1 a 7,4	1,25 mg/100 U	0,12-0,25mg/100 U

6.3.43. INSULINA SULFATADA

En 1946 se describió la posibilidad de la preparación de un derivado químico de la insulina por medio del tratamiento con ácido sulfúrico concentrado a bajas temperaturas (Reitz *et al.*, 1946). Al año siguiente se demostró que la actividad biológica de la sal neutra obtenida por dicho procedimiento tenía una actividad similar a la de la insulina cristalina (Glendening *et al.*, 1947). Realmente este procedimiento lo que logra es la ausencia de zinc, que estabiliza los hexámeros de insulina. Al estar éste ausente hace que la relación dímeros-hexámeros sea 400 veces mayor, lo que logra acción algo más rápida y corta (Hvidt, 1991)

Por otra parte Barral y Roux, en 1931, ya sugirieron que la insulina podría actuar como un antígeno (Stowers *et al.*, 1969). Hubo que esperar a 1960, con el descubrimiento del radioinmunoanálisis, para detectar tanto los niveles de insulina circulantes (Yalow y Berson, 1960) como los anticuerpos contra la misma (Berson y Yalow, 1966). Esto fue la base para constatación de dos hechos fundamentales, que hasta entonces sólo eran suposiciones. Primeramente, que la diabetes tipo 1 era un estado de déficit de insulina mientras que la diabetes tipo 2 podía clasificarse como una resistencia a la insulina, pues tenían cantidades sustanciales de la misma en la sangre. En segundo lugar, puso en evidencia que un subgrupo de pacientes se hacían

resistentes a la insulina por un mecanismo inmunológico, necesitando cada vez mayores cantidades (Kahn *et al.*, 2004).

Esto dio pie a los estudios con la insulina sulfatada, liderados por el equipo canadiense del **Dr. Moloney**. Con ellos demostraron que esta insulina producía menos anticuerpos y, a la par, era menos neutralizable por ellos, siendo una buena opción en los pacientes que desarrollaban una resistencia a la insulina (Moloney *et al.*, 1964). Los estudios posteriores que comparaban esta insulina con otras, enfocados a su uso generalizado en todos los diabéticos, dieron resultados muy diversos. Si bien unos autores encontraban una mejor respuesta inicial junto a una menor producción de anticuerpos y de reacciones cutáneas locales (Little *et al.*, 1977) otros sólo constataron una discreta mejoría y una necesidad de una menor dosificación en tan sólo algunos pacientes (Little y Arnott, 1966). El problema de base es que la insulina contiene varios lugares para la sulfatación y el producto final representa una mezcla de insulinas sulfatadas, que portan de uno a ocho grupos sulfato por molécula, lo que hace que el fármaco obtenido no sea homogéneo (Thomas y Curtis, 1972).

Finalmente se intentó introducir en la clínica en los años 70 (Cochran, 2009), pero ningún laboratorio la comercializó, tanto porque no se había logrado una clara evidencia científica de su superioridad sobre las insulinas existentes como por el conocimiento que tenían las empresas farmacéuticas de que estaba próxima la síntesis de la insulina humana, que daría al traste a la potencial ventaja de la insulina sulfatada de ser menos inmunógena (Weir, 2001).

6.3.44. PAUTAS DE INSULINOTERAPIA

La existencia de diferentes tipos de insulina, dio la posibilidad a múltiples regímenes de insulinoterapia, sin existir, al igual que ocurre hoy en día, uno que fuera superior a los demás. Al final todo dependía, y depende, de la respuesta al tratamiento del paciente. Como ejemplo, en la figura 41 se muestran las más empleadas en el Reino Unido a finales de los años 70 (Watkins, 1982). No obstante, al igual que ocurre actualmente, cada paciente es distinto y, como hemos dicho, no hay ninguna pauta mejor que otra. Es más, el mismo paciente va a necesitar distintas dosis e incluso pautas diferentes de unos días a otros (De Palacios Mateos, 1981), haciendo que la insulinoterapia tenga, en muchas ocasiones, más de arte y experiencia que de ciencia.

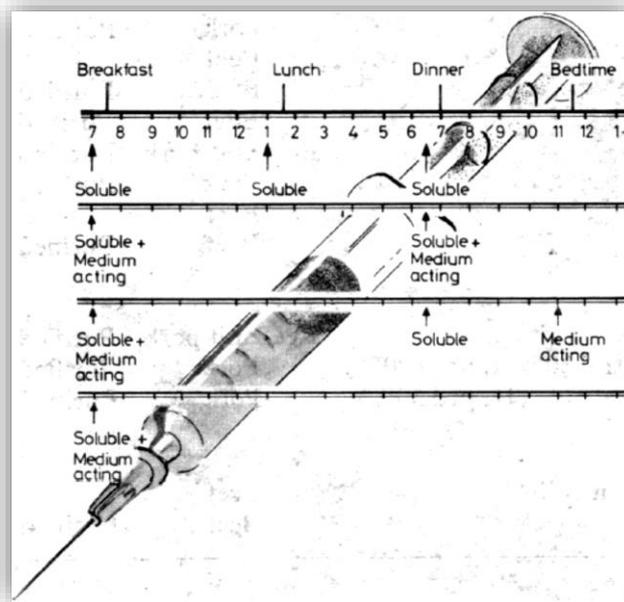


Figura 41: Pautas de insulina más empleadas en el Reino Unido a finales de los años 70 (Watkins, 1982).

No obstante, el gran problema que tenía el profesional y el paciente portador de una diabetes que precisaba insulina era el terrible maremágnum de insulinas existentes a finales de la década de los años 70 (tablas 15, 16 y 17), una fuente constante de dudas y errores, que acababan generalmente en un mal control de la diabetes.

Tabla 15: Soluciones de insulina de acción rápida o corta que requieren tres inyecciones al día (Hazard y Perlemuter, 1982).

Variedades		Insulina ordinaria (IO) cristalina	Actrapid
Vía de administración (a)		SC o IM	SC o IM
Acción (a)	Inicio	20 minutos	15 minutos
	Pico	2 a 4 horas	2 a 4 horas
	Final	6 a 7 horas	6 a 8 horas
Nombres comerciales franceses		Endopancrine 40 monopic*. Insulin cristalliséé**. Novo 40**.	Actrapid MC Novo**
Nombres comerciales españoles		Normal monocomponente (Nordisk-Abelló)**	Actrapid MC** (Novo) Velosulin** (Nordisk)
Mezclas compatibles		IPZ NPH EZR	IZ (Novo)

(a) por vía intravenosa actúan en 5 minutos y duran dos horas. (*) Bovina (**) porcina.

Tabla 16: Suspensiones de insulina de acción semilenta o intermedia que requieren dos inyecciones por día (Hazard y Perlemuter, 1982).

Variedades		Insulina zinc amorfa semilenta MC Novo (Semilente)	NPH	Rapitard (Novo)
Preparación		IO combinada con Zn en ausencia de citratos o de fosfatos extraída del páncreas de cerdo	Insulina con zinc + sulfato de protamina en medio tamponado	Cristales de insulina de buey + Actrapid (cerdo)
Acción	Inicio	1 hora	1,5 a 2 horas	20 minutos
	Pico	Sostenida	8 a 12 horas	6 a 9 horas
	Final	12 a 16 horas	18 a 24 horas	14 a 20 horas
Nombres comerciales franceses		Insuline zinz amorphe semi-lente MC (Novo) (etiqueta roja)**	Endopancreine* Protamine cristallisée NPH monopic*	Insuline Rapitard (Novo)**
Nombres comerciales españoles		Semilente MC (Novo)**	Retardada NPH Insulitard *(Nordisk)	Rapitard (Novo): la mezcla es 25/75* **
Mezclas compatibles		IZ cristalizada IZ mixta	IO	Actrapid MC

(*) Bovina (**) porcina

Tabla 17: Suspensiones de insulina de acción lenta y prolongada que requieren una sola inyección al día (Hazard y Perlemuter, 1982).

Variedades		IPZ: Insulina Protamina Zinc	Insulina Zinc cristalizada (Ultralente)	Insulina zinc mixta (Lente)	Endopancreine zinc retard
Preparación		IO enriquecida con zinc y protamina	Insulina con zinc cristalizada, de páncreas de buey	7/10 insulina zinc cristalizada y 3/10 IZ amorfa	IO precipitada mediante la adición de zinc a pH 7
Acción	Inicio	3 a 4 horas	4 a 6 horas	1 hora	1,5 a 2 horas
	Pico	15 horas	12 a 16 horas	12 a 16 horas	6 a 12 horas
	Final	24 a 36 horas	24 a 30 horas	24 horas	24 horas
Nombres comerciales franceses		Insuline zinc protamine (Novo*). Endopancreine zinc protamine monopic*. Durasoline monopic*.	Insuline Zinc crsitallisée ultra-lente (etiqueta verde)*	Insuline zinc mixte lente Novo (etiqueta azul)* **	Endopancreine zinc retard monopic*
Nombres comerciales españoles		Protamina zinc (Novo)*	Ultralente (Novo)*	Lente (Novo)* ** Monotard (Novo)**	
Mezclas compatibles		IO NPH	Actrapid MC IZ mixta IZ amorfa	Actrapid MC IZ cristalizada IZ amorfa	IO

(*) Bovina (**) porcina

6.3.45. EL INICIO DE LA INSULINA HUMANA

En 1978 Genentech, usando técnicas de ADN recombinante, produce con bacterias *Escherichia Coli* la insulina biosintética "humana". La licencia la compran los laboratorios Lilly. Inicialmente sintetizan las dos cadenas por separado y luego las unen químicamente. Lo logran **Arthur Riggs**, **Keiichi Itakura** y **Herbert Boyer**. El primer ensayo clínico se llevó a cabo en 17 voluntarios en Julio de 1980 en el Guy's Hospital de Londres (Borgoño and Zinman, 2012).

Por su parte, ya entrados los años ochenta, Novo, usando una reacción de conversión enzimática para sustituir la alanina B30 de la insulina porcina por treonina, logra fabricar insulina humana por otra vía, muy sencilla y similar a la que se empleaba para la fabricación habitual (Markussen *et al.*, 1983).

Desde aquí empieza una nueva era en la insulina que marca el punto final del alcance de nuestro estudio. En ese momento se parte con prácticamente las mismas insulinas existentes hasta entonces pero ya de tipo humano. Aunque la insulina porcina difiere de la humana en un aminoácido y la insulina bovina en tres las estructuras tridimensionales son muy similares (Sleigh, 1998). El problema es que la insulina humana, aun teniendo el pico de acción casi a la par de la porcina, tiene una duración mucho menor (Owens *et al.*, 1984). Además, siempre se ha sospechado que produce más hipoglucemias y muertes súbitas que la porcina, probablemente por existir diferencias en los mecanismos contrarreguladores que emplea el cuerpo para contrarrestar la disminución de la glucemia (MacPherson and Feely, 1990). La mayor duración de la acción de las insulinas de origen animal posiblemente sea debida a una tendencia incrementada a unirse a los tejidos grasos, lo que ralentiza la absorción. A mayores, la insulina porcina en comparación con la insulina humana tiene menos tendencia a disociarse de los hexámeros (Sleigh, 1998).

El hecho que plasma estas diferencias de una forma más destacable es la comparación de la Ultratard® humana frente a la bovina. Su tiempo de acción disminuyó en casi un 50 %, pasando de 35 a 53 horas de la porcina a tan sólo 12 a 18 horas con la humana. Con ello desapareció su gran ventaja, la de ser una insulina de una sola aplicación diaria, sobre todo en ancianos (Tattersall, 1992).

Eso sí, la lección que aprendieron de todo ello los investigadores y la industria farmacéutica fue que pequeños cambios en la molécula de insulina suponían, en ocasiones, importantes modificaciones en las características farmacológicas de la insulina. De esa forma se abrieron las puertas del desarrollo de los análogos, que sigue en marcha a día de hoy.

Finalmente, en el año 2005, Lilly cesaría la producción de sus insulinas no humanas, alegando que ni el mercado ni la investigación en la insulina iban por ese camino (Lilly, 2005). En el 2007 lo haría también Novo-Nordisk (Hirst, 2007).

Inicialmente se recomendaba no cambiar a los pacientes bien controlados con las insulinas animales a la insulina humana pues no ofrecían ninguna ventaja, salvo que estuvieran presentes anticuerpos, hecho que sólo era de relevancia en los niños y en los adultos jóvenes (Unites States Phamacopeial Convention *et al.*, 1989). Algo que es digno de recordar y que, incluso, aportaría una solución aún más barata que la propuesta recientemente por el grupo de trabajo de acceso a la insulina de la ADA, que aboga por empezar por insulina humana antes que por los análogos, mucho más caros (Cefalu *et al.*, 2018), para aquellos diabéticos que la precisan y no la pueden pagar, cosa que ocurre tanto en EE.UU. como en los países subdesarrollados. Sin embargo, con los años, todos los diabéticos en occidente han pasado a insulina humana o a análogos sintéticos.

Llegados a este punto es el momento de hacer una sinopsis de todo lo acaecido en el campo de la insulina. Así pues, la cronología de todas las insulinas desarrolladas hasta la introducción de la insulina humana se expone en la tabla 18 y las características de las que tuvieron interés clínico en la tabla 19. Como se puede observar coincidieron muchas de ellas, estando a disposición tanto de médicos como de diabéticos un número de preparaciones que podemos considerar excesivo, algo parecido a lo que ocurre en la actualidad. Esto hizo llegar, ya en 1943, a los Dres. Bailey y Marble a la siguiente conclusión: *“Se deben hacer todos los esfuerzos para simplificar, en lugar de complicar, el tratamiento de la diabetes. Por esta razón, el número de insulinas en el mercado debe mantenerse en un mínimo, preferiblemente dos: un tipo de acción rápida y otro de acción lenta. La duración de la acción de este último debe ser de, al menos, veinticuatro horas”*. Curiosamente, tras 75 años, sus palabras siguen en plena vigencia.

Tabla 18: Resumen de las insulinas previas a la insulina humana.

1922	Descubrimiento de la insulina regular, insulina corriente o amorfa por los canadienses Banting, Best, Collip y MacLeod.
1923	Comercialización de la insulina regular. Primer intento de insulina oral, sin resultado. Insulina vehiculada con una solución al 20 % de goma arábica sin resultados. Insulina con lecitina: produce mucho dolor y en exceso inestable.
1924	Primer experimento con insulina inhalada sin repercusión en la clínica.
1925	Insulina unida a grandes cantidades de proteínas para aumentar su tiempo de acción. No se logra utilidad clínica.
1926	Descubrimiento de la insulina cristalina . Se convertirá en el nuevo estándar y en la base para el resto de las insulinas. Insulina en ungüento: se absorbe irregularmente. Insulina unida a metales (cobalto o níquel): aumento de tiempo de acción pero irregular.
1929	Insulina con aceite de Arachis (cachuete): muy dolorosa. Insulina unida a aceite de ricina: absorción muy variable.
1931	Insulina con Lypinsel: muy espesa y de absorción irregular. Este lípido queda sólo para su uso en cremas.
1933	Insulina con vasoconstrictores: efectos secundarios muy importantes.
1935	Novo comercializa la insulina con vasoconstrictor: la retira rápidamente. Se constata que por vía intranasal la insulina se absorbe. Sin repercusiones clínicas. Se constata que el cloruro férrico retrasa la absorción. No aplicable en clínica. Insulina cristalina zinc: acción intermedia. No confundir con la insulina cristalina. No tuvo repercusiones clínicas.
1936	Durant insulin: unida a una serie de lipoides. Efecto de hasta tres días. Problemas: dolorosa, abscesos y el diabético se encontraba muy mal. Por otra parte, se descarta la insulina iodada . Tras 10 años se pone en el mercado europeo y canadiense la insulina cristalina . Tanato de insulina al 0,2 % o ácido insulínico-tánico-zinc. Efecto hipoglucémico retardado pero prolongado, comparable al de la insulina protamina. Más barata y más irritante. Se abandonó en 1940. Insulina protamina: La primera que aumenta su tiempo de acción con repercusiones clínicas. Había que prepararla antes de inyectarla (la mezcla con la protamina) por lo que rápidamente la superó la PZI.
1937	La protamina-zinc-insulina o PZI: descubierta el año anterior. Solventa el problema de la inestabilidad y ya viene mezclada en el mismo vial. Disponible hasta nuestros días (para uso veterinario). No se podía mezclar en la misma jeringa con la rápida. La había con y sin albúmina, turbia y clara.
1938	La alemana Hoechst desarrolla y comercializa la insulina con aminoquinurida (surfen®) , un desinfectante que prolonga la acción de la insulina. Tiene un perfil intermedio. Estará en el mercado hasta el 2005.
1939	Derivados azoicos de insulina y la arginina insulina: no se llegan a comercializar. Insulina con pectina: Decurvon®: de efecto más corto que la PZI, por lo que cayó en desuso.
1940	Insulina con adrenalina y extractos del lóbulo posterior de la pituitaria: era el Deposulin® de Novo. Sus efectos vasoconstrictores eran peligrosos en hipertensos y cardiopatas.
1942	Se comercializa la histona zinc insulina . De duración algo más corta que la PZI.
1943	Se desarrolla la insulina NP50: poco estable. Está disponible poco tiempo.
1944	Comercialización de la insulina globina zinc: descubierta en 1939. Perfil similar a PZI pero no controlaba bien a los que necesitaban más de 40 U. Más alergias pero más barata.
1945	Subtosan-insulina o polivinil-insulina: ninguna aplicación clínica.
1950	Se comercializa la insulina NPH50 , insulina porcina isofánica protamina neutra Hagedorn o insulina NPH . Descubierta en 1946. Era una modificación de la PZI más estable. Dura hasta 18 a 24 horas, aunque se emplea cada 12 horas, y se puede premezclar con insulina rápida en el mismo vial. Ha llegado hasta nuestros días, eso sí, de origen humano.
1952	Iso-insulina y Di-insulina: Menos potente que la PZI en el control de las hiperglucemias nocturnas. Cayeron en desuso. Aparece la insulina U-500 bovina (Iletin U-500). Sigue existiendo hoy en día de origen humano
1953	Comercialización de las insulinas Lente . La de duración corta era la Semilente , la larga la Ultralente y la intermedia la Lente (era una mezcla de las dos anteriores en proporción 3 a 7). Persiste en nuestros días para uso veterinario.
1963	Los alemanes informan que han logrado sintetizar insulina en pequeñas cantidades.
1965	En 1965 Novo introduce dos insulinas, la rápida Actrapid® o insulina soluble neutra (cerdo) y la intermedia Crystal II (vaca). La preparación comercial (Rapitard®) lleva una mezcla de ambas, teniendo una acción dual. Comienza a producirse, por primera vez a nivel industrial, la insulina bovina totalmente sintética en China .
1967	Novo trabaja preferentemente con insulinas de porcino al demostrarse que dan menos alergias.
1973	Novo introduce las insulinas ultrapurificadas o MC . Duración algo menor que las no purificadas. Intento de comercializar la insulina sulfatada , menos inmunógena. No cuaja.
1978	Genentech y Lilly sintetizan la insulina humana . Aquí comienza otra historia.

Tabla 19: Características farmacológicas de las insulinas que a lo largo del tiempo han tenido una importancia relevante por su uso clínico. La gran variabilidad se debe a las diferentes marcas y lotes así como a las diferentes respuestas de cada diabético.

Insulina	Nombre comercial	Inicio	Pico	Final
Rápidas				
Insulina amorfa SC/IM	<i>Desplazada por la cristalina</i>	15 minutos	1-2 horas	5-6 horas
Insulina cristalina SC/IM	<i>Normal (Nordisk-Abelló) Insulina + fabricante (Alter, Armour, Berna, Coca, Choay, Horm, Ibis, Leo, Lilly, Novo, Lacatan, Wellcome)</i>	20 minutos	2-4 horas	6-7 horas
Insulina cristalina IV	<i>Id.</i>	5-10 minutos	25-60 minutos	1,5 horas.
Actrapid*	<i>Actrapid MC* (Novo) Velosulin* (Nordisk)</i>	15 minutos	2-4 horas	6-8 horas
Semilentas				
Insulina protamina	<i>Retard-Leo (Nordisk)</i>	¿?	¿?	12-14 horas
insulina surfen®	<i>Depot-insulina Bayer.</i>	2 horas	¿?	20 horas
Insulina histona zinc	<i>¿?</i>	1-2 horas	6-8 horas	18-22 horas
Insulina globina zinc	<i>Insulina globina Gayoso Wellcome</i>	1-2 horas	8 horas	17-24 horas
Isofánica o NPH	<i>Retardada NPH (Novo) Leo Retardad NPH Insulatard (Nordisk) Insulina NPH Berna Insulina NPH Alter Insulina NPH Lilly Insulina NPH Wellcome</i>	1,5-2 horas	8-12 horas	18-24 horas
Insulina zinc amorfa semilente	<i>Semilente MC (Novo)</i>	1 hora	6-12 horas	12-16 horas
Rapitard	<i>Rapitard (Novo)</i>	20 minutos	6-9 horas	14-20 horas
Lentas				
IPZ: Insulina Protamina Zinc	<i>Protamina zinc (Novo) IZP Berna IPZ Wellcome IPZ Leo</i>	3-4 horas	14-20 horas	24-36 horas
Insulina zinc cristalizada	<i>Ultralente (Novo)</i>	4-6 horas	12-16 horas	24-36 horas
Insulina zinc mixta	<i>Lente (Novo) (vaca) Monotard (Novo) (cerdo)</i>	1 hora	12-16 horas	24 horas

(SC subcutánea; IM intramuscular, IV intravenosa)

6.3.46. EL PROBLEMA DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE INSULINA EN LOS VIALES

Un problema añadido a la ya difícil tarea de saber qué o cuales insulinas eran las más adecuadas para cada paciente lo añadían las distintas concentraciones con las que se fabricaban cada una de ellas (tabla 20). Esto obligaba al paciente con diabetes a tener a su disposición diferentes jeringuillas y era una fuente constante de posibles errores de dosificación, con las consecuentes hiper o hipoglucemias debidas a ello (Hirsh, 1958).

Tabla 20: Presentaciones disponibles de insulina y sus concentraciones a finales de los años 50 (Hirsh, 1958).

Insulina	20 UI/ml	40 UI/ml	80 UI/ml
Insulina soluble	X	X	X
Insulina globina	X	X	
Protamina Zn (PZI)	X	X	
Isófana (NPH)	X	X	
Semilente	X	X	
Lente	X	X	
Ultralente	X	X	

Además muchas de las jeringuillas disponían de distintas escalas, lo que hacía aún más fácil las equivocaciones en la dosis (figura 42) (Collens *et al.*, 1946). Está claro que era relativamente fácil equivocarse tanto a la hora de coger una u otra o al tiempo de medir la cantidad en una escala que no se correspondía al vial empleado, máxime teniendo en cuenta que el paciente con diabetes era fácil que tuviera problemas visuales, una de las complicaciones de la enfermedad.

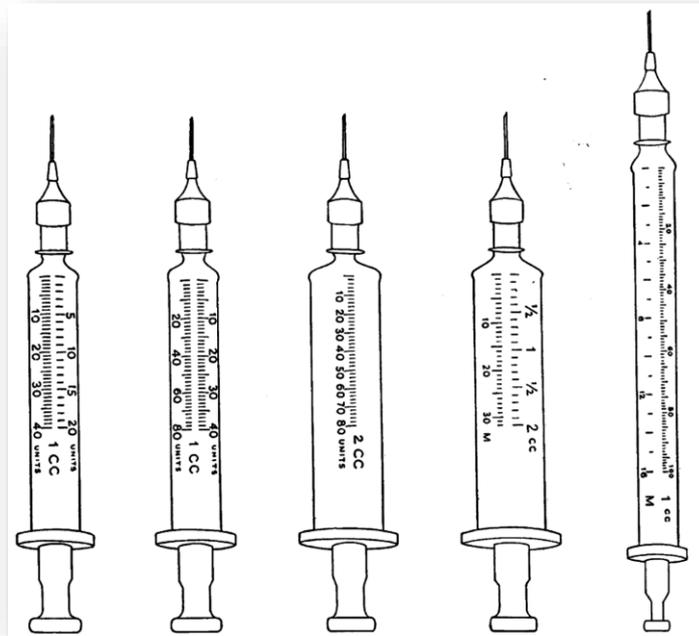


Figura 42: Diferentes jeringuillas para insulina existentes a mitad de los años cuarenta (Collens *et al.*, 1946). Obsérvese que unas venían con distintas escalas, otras en una escala de unidades y centímetros cúbicos y otras sólo con una escala para una concentración determinada.

Se tardó muchos años en llegar a un acuerdo en este sentido, ya en época de la insulina de origen humano, siendo el estándar desde el año 1973 el de 100 UI/ml en EE.UU. y desde el año 2000 en Europa (Prescrire, 2000). Tan sólo quedaba fuera la insulina U500 (Humulin R U-500®) pues a esta concentración la insulina cristalina se comporta como una intermedia, como ya hemos dicho (Cochran *et al.*, 2005).

No obstante, este estándar últimamente lo están rompiendo los fabricantes por distintos motivos (glargina U300, lispro U200, degludec U200). Sin embargo, debemos de añadir que, a día de hoy, ya no supone tanto problema pues estas insulinas, diferentes al estándar U100, vienen en el formato “pluma”, que las dosifica sin problemas, mientras se sigan correctamente las condiciones para su aplicación.

6.4. LA INSULINA PARA SU EMPLEO EN VETERINARIA

La insulina es una proteína que se produce unida al péptido C en forma de proinsulina. Entre las distintas especies hay unas pequeñas diferencias en los aminoácidos que la componen (tabla 21) (Zerrenner *et al.*, 2007).

Tabla 21: Diferencia en aminoácidos entre las distintas especies animales. Se destacan en verde las diferencias (Zerrenner *et al.*, 2007).

Posición	Humana	Bovina	Porcina	Canina	Felina
A8	Treonina	Alanina	Treonina	Treonina	Treonina
A10	Isoleucina	Valina	Isoleucina	Isoleucina	Valina
A18	Asparragina	Asparragina	Asparragina	Asparragina	Histidina
B30	Treonina	Alanina	Alanina	Alanina	Alanina

Realmente, desde el inicio, en veterinaria se emplearon las insulinas disponibles para humanos. Está claro que su uso es en animales de compañía, no teniendo ningún sentido en la veterinaria que podríamos llamar “de granja”. En 1988 Hardy destacaba que las mejores opciones para pequeños animales eran la insulina regular, la PZI y la NPH. La que se empleaba con más frecuencia en los perros era la última en una sola inyección al día, mientras que en gatos era la PZI. Dos alternativas aceptables eran la lente para los perros y la Ultralente para los gatos (Dowling, 1995).

A nivel legal nos encontramos que las autorizadas para animales son la insulina Lente de origen porcino (Vetsulin®/Caninsulin® y la pluma VetPen®) y la insulina PZI (PZI-Vet®) de origen bovino (90%) y porcino (10%) (Zerrenner *et al.*, 2007). No obstante, no se recomienda la de origen bovino para perros porque produce muchos anticuerpos que pueden dificultar la respuesta al tratamiento (Rucinsky *et al.*, 2010). Por ello la insulina lente dirigida al tratamiento de los cánidos disponible hoy en día es de origen porcino. Destacar que la insulina porcina y la canina son estructuralmente iguales, mientras que en el caso de los gatos su insulina difiere en dos aminoácidos (Thompson *et al.*, 2015).

La Vetsulin® (marca comercial en EE.UU.)/Caninsulin® (nombre comercial fuera de EE.UU.) recomienda empezar en perros con 0,5 UI por kg de peso, mientras que en

gatos se comienza con 1 a 2 UI (U.S. Food and Drug Administration, 2008). Vetsulin® es una mezcla de un 65% de insulina zinc cristalina o insulina Ultralente y un 35 % de insulina zinc amorfa o insulina Semilente (Thompson *et al.*, 2015), unas proporciones un poco diferentes a la que se empleaba en humanos que, recordemos, eran 70/30. Es curioso como esta insulina que copa las ventas en el campo de la veterinaria la fabrica una farmacéutica que no tiene ningún papel en la insulina para humanos, los laboratorios Merck o MSD fuera de los Estados Unidos.

Una precaución que se debe de tomar con ellas es en el uso de las jeringuillas, que deben de ser siempre las de 40 UI/ml, pues estas insulinas están disponibles en concentraciones de 40 UI/ml y no de 100 como la insulina humana (Thompson *et al.*, 2015).

En el año 2009 la FDA y en el 2013 la EMA autorizó la PZI de origen humano para su uso veterinario, en concreto en el gato (Prozinc®) (FDA, 2009; EMA, 2013). Contiene por mililitro 0,466 mg de sulfato de protamina, 0,088 mg de óxido de cinc y 2,5 mg de fenol. Curiosamente la insulina humana y la de gato difieren en tres aminoácidos, uno más de lo que ocurre con el cerdo y la vaca (Zerrenner *et al.*, 2007) y se ha buscado, y logrado, la autorización para la que potencialmente más problemas podría dar en lo referente a alergias e incompatibilidades.

Hay datos que apoyan evitar el empleo de la insulina Lente en los felinos (Rucinsky *et al.*, 2010; Reusch, 2014). No obstante, en caso de emplearla daría mejor resultado la de origen humano (Broussard and Peterson, 1994), algo muy curioso por la diferencia en aminoácidos antes expuesta.

La insulina Lente porcina en gatos tiene un doble pico a las 2 y a las 8 horas y una acción de 8 a 10 horas. Por su parte la PZI bovina/porcina presenta el pico entre las 2 y 6 horas y una acción de 13 a 24 horas. Por ello se considera a la primera de acción intermedia y a la segunda de acción larga (Sparkes *et al.*, 2015). La PZI recombinante humana tiene un pico a las 6 horas y una acción de 9 horas (European Medicines Agency, 2017). Por su parte, en los perros la Lente porcina tiene sus picos a las 4 y a las 11 horas (por la mezcla de las dos insulinas) y una acción de 16 horas. La PZI bovina/porcina presenta el pico a las 10 a 12 horas y una acción de hasta 20 horas (Thompson *et al.*, 2015), que con la humana desciende a sólo 10 horas (Maggiore *et al.*, 2012). No hay apenas estudios disponibles de esta última en perros, por lo que se desconoce a día de hoy su pico de acción. Los perfiles de estas insulinas se exponen en la tabla 22.

Tabla 22: Perfiles de las distintas insulinas autorizadas en los pequeños animales. Elaboración propia.

Tipo de insulina	Pico (horas)		Duración (horas)	
	Gato	Perro	Gato	Perro
Lente porcina	2 y 8	4 y 11	8 a 10	16
PZI bovina/porcina	2 a 6	10 a 12	13 a 24	20
PZI humana	6	-----(*)	9 a 14	10

La insulina Lente tiene dos picos. (*) No hay datos disponibles.

Como se puede apreciar también en los animales se puede constatar la misma observación efectuada en humanos. La insulina humana tiene una menor duración que las de origen animal. En este caso ya se puede afirmar, casi con total seguridad, que esto es debido simplemente a ese pequeño cambio de aminoácidos en su molécula, pues el problema de las impurezas, con la tecnología del siglo XXI, ya no se puede aducir como causa de este efecto. Luego el englobar a la insulina porcina y bovina dentro del conjunto de los “análogos de insulina humana”, eso sí de origen natural, no es en absoluto descabellado. Tienen distinto perfil que, como en el caso de los análogos de síntesis, se puede aprovechar en la individualización del tratamiento de los enfermos portadores de una diabetes y que precisen insulina en su tratamiento.

Por último queremos destacar que, en la actualidad, estas dos insulinas, la Lente porcina y la PZI porcina/bovina, son las únicas supervivientes que quedan de las antiguas insulinas al haber desaparecido todas ellas del vademécum humano.

6.5. EL EMPLEO DE LA INSULINA PARA INDICACIONES DIFERENTES DE LA DIABETES

Antes de comenzar este capítulo recordar al lector que, a día de hoy, la insulina sólo está indicada en la diabetes mellitus tanto por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) como por la US Food and Drug Administration (FDA). Todo lo que se va a tratar son usos que se le dieron y que, a día de hoy, ya son extintos.

6.5.1. ENDOCRINOLOGÍA Y METABOLISMO

En el campo de la endocrinología la insulina se empleó para lo que se denominaba como lipodistrofia progresiva o enfermedad de Simmond. Hoy la conocemos como enfermedad de Simmond-Sheehan o insuficiencia de la adenohipófisis. Cursa con hipotiroidismo, insuficiencia suprarrenal, hipogonadismo y deficiencia de la hormona de crecimiento. La finalidad de la insulina era aumentar el apetito y, consecuentemente, la ganancia de peso que no lograban con las dietas hipercalóricas. La dosis inicial era de 10 U al día que se iba aumentando a razón de 10 U diarias, hasta alcanzar una dosis final de 40 a 50 U. A la par se les daba zumo de naranja y galletas entre las comidas, para aumentar la ingesta de hidratos de carbono y evitar la hipoglucemia. Era importante no olvidarse que hubiera una ingesta a última hora del día, justo antes de acostarse, para así evitar la hipoglucemia nocturna y no producir un shock hipoglucémico (Wallerstein, 1941).

También se empleaba en los hiperadrenalismos (Wallerstein, 1941) y para los hipertiroidismos cuando se acompañaban de adelgazamiento e hiperglucemia, buscando, igualmente, el aumento de peso del paciente (Velázquez, 1955).

A nivel diagnóstico se ha empleado para evaluar la secreción de la hormona del crecimiento por la hipófisis, que es una de las sustancias contrainsulares del cuerpo humano (Thomas y Jones, 1978).

También se empleó en algunas avitaminosis. Existen informes de casos de beriberi en la etapa convulsiva curada con inyecciones repetidas de insulina. También los hay con la pelagra y en ambas formas de esprue, comunicando excelentes resultados en este último caso (Wallerstein, 1941). Está claro que en estas comunicaciones, analizadas desde los conocimientos actuales, o el diagnóstico era erróneo o los resultados fueron fruto de la casualidad.

Otro de los usos de la insulina era bajar de una forma rápida el potasio sérico pues lo emplea para realizar el paso de la glucosa al espacio intracelular (Thomas y Jones, 1978). Igualmente se empleó para el tratamiento del adelgazamiento sin causa subyacente. En este caso se ponían 10 U antes de la comida y de la cena hasta recuperar el peso deseado (Litter, 1980). Era lo que se llamaban curas de engorde, que venían aún como una de las indicaciones de la insulina en el Diccionario Español de Especialidades Farmacéuticas a finales de la década de los 60.

6.5.2. REUMATOLOGÍA

La insulina se empleó, junto a las transfusiones, para el tratamiento de la artritis reumatoide. Se aplicaba dos veces al día, comenzando por 5 U. Luego se subía a 10 y, posteriormente, a 30 U, según la tolerancia del paciente. Se le transfundían 500 ml de sangre cada día durante una semana. Esta terapia se basaba en la creencia de que la insulina incrementaba el poder antitóxico de las transfusiones. A mayores, producía hipoglucemias que estimulaban el apetito del paciente, lo que conducía a un aumento del peso que, en estos pacientes, era generalmente bajo (Copeman, 1931). Sus partidarios defendían su utilidad aunque, ciertamente, aportan muy pocas pruebas de tal afirmación en sus trabajos. Está claro que la utilidad de tal terapia es nula y ha pasado al olvido.

6.5.3. PSIQUIATRÍA Y NEUROLOGÍA

La producción de convulsiones por la insulina ya la describió el equipo de Toronto en 1922 en sus experimentos en conejos (Banting *et al.*, 1922b). Es más, como ya hemos dicho, su desencadenamiento era el punto que se tomó como referencia para el cálculo inicial de la unidad de insulina. Se comprobó rápidamente que también ocurría en los humanos el desencadenamiento de esta clínica (Feigenbaum, 1923). A partir de esta propiedad el **Dr. Manfred Sakel**, en 1928, inició el tratamiento, por medio de hipoglucemias, tanto de las psicosis como de las adicciones a morfínicos. Fue lo que luego se llamó “cura de Sakel”. La terapéutica consistía en tener al paciente en coma entre cuatro y cinco horas, para lo que se necesitaban en ocasiones hasta 500 U de insulina, del que se le sacaba con glucosa. Posteriormente se le tenía de cuatro a ocho días en hipoglucemia con menores dosis de insulina (Sakel, 1937). Otros autores preconizaban empezar por comas de no más de hora y media e ir aumentando el tiempo, en función de la respuesta física del

paciente (Freudenberg and Cannon, 1938). La terapia se prolongaba hasta un total de 20 a 50 shocks en función de la mejoría del paciente (Easton, 1938). Los resultados aportados eran francamente buenos en los casos de psicosis de reciente diagnóstico (buenas remisiones en un 88 %; de ellas un 70 % fueron completas) y algo peores en los casos de más de seis meses de duración (47 y 19 % respectivamente) (Sakel, 1937). Las dudas surgían en cuál era su mecanismo de acción. No se sabía si el efecto era por la hipoglucemia en sí o bien si era debido a una acción directa sobre el sistema nervioso central de la propia insulina, efecto por otra parte independiente de su acción hipoglucémica (Ziskind *et al.*, 1938). No obstante, el propio Sakel defendía que la hipoglucemia insulínica era la que producía muchos cambios en el sistema nervioso vegetativo, probablemente bloqueando los centros del cerebro medio relacionados con el metabolismo cerebral. Además, creaba un severo “hambre de azúcar” en las células, que estimulaba una serie de mecanismos de defensa, responsables de los cambios que se observaban en el comportamiento del paciente (Sakel, 1938). Incluso otros autores, menos entusiastas de esta terapia, incidían en que, sin admitir un efecto específico de la insulina en la esquizofrenia, hacía que el paciente fuera más receptivo a recibir otras formas de tratamiento, como la psicológica o la ocupacional (Easton, 1938). Además, la mortalidad del procedimiento, efectuado con la técnica correcta, era inferior al 1 % o menos, considerada muy aceptable para la época (Müller, 1938).

A la hora de juzgar su empleo para producir un coma hipoglucémico terapéutico hay que partir de que, cuando se empezó a emplear la insulina para el tratamiento de la esquizofrenia, todo lo que existía dentro del arsenal de la psiquiatría era la narcosis prolongada inducida por medio de drogas, tales como los barbitúricos, el somnifen, los opiáceos y el amytol sódico; la producción de fiebre inoculando el paludismo; las corrientes de alta frecuencia; las inyecciones de proteínas extrañas; la producción de meningitis aséptica y la inducción de convulsiones epileptiformes por medio de fármacos convulsivos, como el alcanfor y el metrazol o pentilenotetrazol (Easton, 1938). Luego vendría la leucotomía frontal en 1945 por la que le dieron el premio Nobel al portugués António Egas Moniz en 1949 (Jones, 2000) al que, curiosamente, no se lo habían dado por la invención de la angiografía. El beneficio obtenido con la insulina era cualitativamente superior al obtenido con estos métodos primitivos en esta rama de la medicina y disminuía el período de hospitalización (Johnson, 1939). Era la primera esperanza real, tanto para los pacientes como para los familiares y sus médicos, para el tratamiento de las denominadas por entonces como psicosis malignas (Youngue, 1939). Eso, en el campo de estas enfermedades, era mucho.

En algunas ocasiones se empleaban el metrazol y la insulina alternativamente. Otra alternativa era administrar el metrazol durante la tercera o cuarta hora de hipoglucemia con insulina (Barker, 1939). La insulina empleada era insulina rápida. La insulina protamina de zinc no era adecuada. No existía una dosis uniforme y había un mayor peligro de un shock posterior. Además, era menos efectiva pues el coma hipoglucémico depende tanto del nivel alcanzado como de la tasa de la disminución de la glucemia. La PZI es demasiado lenta en este último punto (Reese y Vander Veer, 1938). Posteriormente algunos autores emplearon la insulina Lente, encontrando mejores resultados que con la insulina regular o el electroshock (Akiyams *et al.*, 1958). El papel de la insulina en esta patología llegó a ser tal que, a principio de los años cuarenta, se consideraba que tenían mejor asistencia psiquiátrica los países que empleaban más insulina que cardiazol (López Ibor y Vela del Campo, 1940).

No obstante, a finales de los 50, tras el trabajo de Ackner y colaboradores, donde se demostraba que los comas hipoglucémicos no daban mejor resultado que los barbitúricos, hizo que empezara a caer en desuso (Ackner *et al.*, 1957). Su final vino marcado por la aparición de los neurolepticos, máxime desde que la clorpromazina demostró dar iguales resultados pero con menos efectos secundarios. A mayores ofrecía la posibilidad de un tratamiento continuado a largo plazo, tratamiento que era, evidentemente, mucho más llevadero que los choques de insulina administrados con regularidad (Fink *et al.*, 1958).

Otra aplicación fue utilizar la técnica del shock hipoglucémico a las demencias. Se obtuvieron resultados muy dispares, con mejorías que variaban, según los autores, entre un 6,5 % a un 23 %, siendo muy importante que la terapia se aplicara de una forma precoz (Mack and Burch, 1939). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los conceptos en psiquiatría durante los años treinta eran muy diferentes a los de actuales. Leyendo las descripciones que aportan los autores sobre lo que consideran una demencia (Larkin, 1937) vemos que, en muchos casos, realmente estaban tratando lo que actualmente se etiqueta como una esquizofrenia catatónica, clasificada en epígrafe F20.2 del CIE-10.

También se aplicó la insulina para el tratamiento de la intoxicación aguda por alcohol. Eso sí, unida a glucosa al 50 % (15 U de insulina con 50 ml de suero glucosado), pues ambas sustancias por separado no tenían efecto, sugiriendo que la oxidación del alcohol podía ser catalizada por la oxidación simultánea de la glucosa (Goldfarb *et al.*, 1939). Hoy sabemos que el efecto se debía sólo a la glucosa, deficitaria en esta intoxicación (López Briza y Ruiz García, 2006).

Por último, otras aplicaciones de la insulina en neurología, esta vez sin inducir el coma, fueron en la miastenia gravis, junto a la prostigmina, aportando datos de su acción beneficiosa. El fundamento teórico de dicha indicación era que la acción destructiva en la unión mioneural de la colinesterasa en la acetilcolina causaba posiblemente una inanición local de carbohidratos y que la insulina podría aumentar el suministro localmente (Robinson, 1937). También se aplicó tanto a pacientes con esclerosis múltiple como a parkinsonianos (Rodríguez-Arias, 1953).

6.5.4. ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La insulina era empleada por algunos médicos para mejorar el apetito y el peso de los pacientes con una tuberculosis grave para remontar su situación basal, previa a la cirugía (Ellman, 1932 y 1936). Sin embargo, muchos de estos pacientes reaccionaban mal frente a esta terapia. Por ello se comenzaba con unas dosis muy pequeñas que alternaban con glucosa por vía intravenosa. Se aplicaba sólo en los casos crónicos inactivos, para así evitar el peligro de que apareciera una hemoptisis que, en ocasiones, era fatal (Wallerstein, 1941).

6.5.5. CIRUGÍA

Ya dentro del campo de la cirugía, la insulina se empleaba para el tratamiento de las úlceras varicosas. Consistía en aplicar a nivel local, después de limpiar la úlcera con compresas empapadas en solución salina y seguidamente secarla, una pequeña cantidad de insulina (generalmente unas 20 U) durante aproximadamente diez minutos. Después de esto, la insulina que no se había absorbido se eliminaba. Por último se colocaba el vendaje o un adhesivo elástico. Esto se repetía cada tres o cuatro días. Se afirmaba que, en muchos casos, acaecía la curación en dos o tres semanas, incluso cuando las úlceras eran grandes (Payne, 1938). No obstante, otros autores, con un enfoque similar al empleado años después en los ensayos clínicos pareados y empleando tricresol como control, llegaron a la conclusión de que la insulina no era mejor que un vendaje externo con una solución similar que no la contenía (Hunter, 1939).

También se empleaba para mejorar el postoperatorio de algunos pacientes con mal estado general previo buscando, además, una mejor cicatrización. Se les ponía inicialmente unas 15 U de insulina junto a un suero glucosado, esperando que la primera produjera un mejor metabolismo de la glucosa suministrada, para así lograr

el objetivo de una mejor recuperación. La pauta se repetía a lo largo de los días, subiendo las dosis de ambos y buscando no producir ni hiper ni hipoglucemias (Gurd, 1937).

6.5.6. CARDIOLOGÍA

La insulina también se empleó en la terapia cardíaca de las personas no diabéticas, tanto en la insuficiencia cardíaca congestiva como en los síndromes arteriales coronarios. Se postuló que el dolor anginoso estaba relacionado con un metabolismo defectuoso de los carbohidratos en el corazón, sosteniendo la teoría de una acción dual. Inicialmente la insulina actuaba en el corazón de forma inmediata por su efecto estimulante sobre el metabolismo del glucógeno. Posteriormente, de una forma más lenta, su acción consistía en un aumento de la combustión de la grasa, proceso que conducía a la resolución de los cambios ateromatosos tempranos en las arterias coronarias (Smith, 1933). Evidentemente todo ello era falso y, en el mejor de los casos, no producía ningún efecto en el paciente, demostrando una vez más que no se debe aplicar en clínica un fármaco sólo en base a ideas teóricas sin el debido apoyo en ensayos clínicos.

También se empleó para actuar sobre el ritmo cardíaco, en concreto en las taquiarritmias, pues se observó que, en pequeñas dosis, producía tanto una disminución del mismo como de la tensión arterial. Sin embargo, en grandes dosis detenía completamente el corazón, lo que se creía que era debido a la estimulación de las terminaciones nerviosas del vago periférico, actuando como un verdadero antagonista fisiológico de la atropina (Pal y Prasad, 1934).

6.5.7. APARATO DIGESTIVO

En el campo de la hepatología la insulina se empleó para lo que entonces se denominaba ictericia catarral, que hoy conocemos como hepatitis víricas agudas. Su principio teórico era intentar reponer en el hígado los depósitos de glucógeno. Eso sí, se descartaba su uso cuando la ictericia era de origen obstructivo (Wallerstein, 1941).

También se empleaba en la úlcera gastroduodenal. En este caso se indicaba para frenar los dolores, basándose en su estímulo sobre el sistema vegetativo (Velázquez, 1955).

6.5.8. DERMATOLOGÍA

Se comunicaron resultados positivos con la insulina en el tratamiento de los eczemas y de las dermatitis que no respondían a las terapias habituales, que aún no incluían de forma rutinaria la corticoterapia tópica. Lo mismo ocurría con la urticaria. Se empleaban de cinco a diez unidades de insulina regular una vez al día. Ésta fue reemplazada por la insulina protamina zinc cuando apareció. Los resultados hacían suponer que, dado que a una dosis tan pequeña el metabolismo de los carbohidratos no se veía alterado, debía de existir otro mecanismo directo de acción de la insulina sobre estas patologías dermatológicas (Caven, 1938).

También se empleaba para otras afecciones cutáneas, como la forunculosis y los abscesos, sobre todos en los sujetos obesos. Se observó que los niveles normales de glucosa en la dermis de los mismos eran superiores a los 58 mg/ml, cifra que se consideraba el límite alto de la normalidad. Aún sin ser el sujeto diabético, esta denominada “diabetes cutánea” se trataba con insulina. El tratamiento se hacía tanto por vía general como inyectándola en la propia lesión. Hubo autores que comunicaron buenos resultados con esta terapia (Velázquez, 1955). Eso sí, los trabajos eran una mera relación de casos, sin ningún tipo de diseño con una cierta coherencia científica.

6.5.9. GINECOLOGÍA

Finalmente, otra de las indicaciones que tuvo la insulina durante algunos años fue la toxemia del embarazo o eclampsia. Su objetivo era reponer la alteración de las células hepáticas, para lo que se empleaba un tratamiento combinado de insulina y glucosa antes de la interrupción del embarazo, mostrándose superiores sus resultados al tratamiento convencional de la época, basado en la aplicación de narcóticos (Wallerstein, 1941).

El resumen de las antiguas indicaciones de la insulina se expone en la tabla 23. Recordar, una vez más, que **ninguna de ellas se encuentra aceptada en la actualidad.**

Tabla 23: Resumen de las antiguas indicaciones, a parte de la diabetes, de la insulina.

Campo de la medicina	Indicaciones
Endocrinología y nutrición	Insuficiencia de la adenohipófisis; hiperadrenalismo; hipertiroidismos; evaluar la secreción de la hormona del crecimiento; avitaminosis; hiperpotasemia; adelgazamiento (curas de engorde).
Reumatología	Artritis reumatoide
Psiquiatría y neurología	Psicosis; demencias; adicciones a mórnicos; intoxicación aguda por alcohol; miastenia gravis; esclerosis múltiple; enfermedad de Parkinson.
Infeciosas	Mejora del estado general en tuberculosis grave.
Cirugía	Úlceras varicosas; mejora del postoperatorio de algunos pacientes con mal estado general previo.
Cardiología	Insuficiencia cardíaca congestiva; síndromes arteriales coronarios; taquiarritmias.
Aparato digestivo	Ictericia catarral (como hepatitis víricas agudas); úlcera gastroduodenal.
Dermatología	Eczemas; dermatitis; urticaria; forunculosis y los abscesos.
Ginecología	Toxemia del embarazo o eclampsia.

7. CONCLUSIONES

1. La insulina para uso humano fue descubierta por el equipo canadiense formado por los Dres. Banting, Best, Collip y MacLeod en 1922. Era la llamada insulina amorfa. Lograron que su primer paciente, Leonard Thompson, viviera hasta 1935, fecha en que falleció por las complicaciones de un accidente de tráfico. Nadie antes había logrado con sus extractos pancreáticos que los diabéticos aumentaran su supervivencia.
2. Desde prácticamente su descubrimiento se buscaron otras vías de administración diferente a la parenteral. Se investigaron la vía oral, la intranasal, la inhalatoria y la transdérmica. Pese a que la insulina se absorbía por todas ellas era de una forma muy irregular, descartándose para su empleo. A día de hoy seguimos prácticamente en la misma situación.
3. La insulina cristalina sería la versión mejorada de la amorfar. Aunque fue descubierta por el Dr. Abel en 1926 no se puso en el mercado europeo y canadiense hasta 1936. Pasaría a ser el nuevo estándar y la base para desarrollar el resto de las insulinas. No habría ninguna otra insulina rápida hasta 1965, cuando Novo introduce la Actrapid. En los años 70 se intentaría con la insulina sulfatada, menos inmunógena, que no cuajó.
4. Después del entusiasmo inicial por este “fármaco maravilla” pronto se dieron cuenta que había que inyectarlo un número excesivo de veces, algo muy engorroso y no faltó de efectos secundarios para el paciente. Se necesitaban insulinas que cubrieran todo el día con una o, a lo sumo, dos dosis.
5. Para aumentar el tiempo de duración de la insulina se hicieron ensayos por prácticamente todas las vías disponibles para los investigadores. Se probó con lípidos, metales, proteínas y un sinfín de sustancias.
6. La evaluación del resultado de cada nuevo compuesto de insulina se hacía por medio de una simple descripción de casos. La metodología del ensayo clínico no se describió hasta 1948, aunque no se hizo habitual hasta muchos años después.
7. Entre 1923 y 1931 se intentó vehicular la insulina con lípidos. La absorción irregular y los efectos secundarios, entre los que destacaba el dolor en el lugar de inyección, descartaron esta asociación.

8. La unión para aumentar la duración del efecto de la insulina con los vasoconstrictores la comenzó la farmacéutica Novo en 1933. Lo volvió a intentar en 1940, esta vez con extractos de adenohipófisis. En ambas ocasiones fue un fracaso por los importantes efectos secundarios y el rebote glucémico que seguía a su administración. Tuvo que abandonarse.
9. El primer intento de aumentar la duración usando proteínas acaeció en 1925, con un estrepitoso fracaso. En 1936 lo logró el Dr. Hagedorn y su equipo con la protamina. La unión con dicha proteína, procedente del esperma del salmón, ya tuvo una repercusión clínica. El problema era que había que mezclarla justo antes de su administración.
10. La otra vía para aumentar el tiempo de acción era la adición de metales. En 1926 se intentó con el níquel y el cobalto. Se logró, pero la acción era muy irregular. El que finalmente dio resultado fue el zinc, muy abundante en el páncreas. Inicialmente se empleó para lograr la insulina cristalina, algo más estable y duradera que la amorfa.
11. En 1937 se puso en el mercado la insulina zinc protamina o PZI. Esta vía mixta, que usa una proteína y el zinc, logró una insulina estable y de larga duración, que ya venía mezclada en el vial. Es la primera insulina de acción larga realmente útil a nivel clínico. Tanto es así que ha llegado hasta nuestros días, aunque sólo para uso veterinario.
12. Una tercera vía para prolongar el efecto de la insulina tan sólo la empleó la farmacéutica alemana Hoechst. En 1938 añadió un desinfectante, el Surfen®, logrando un preparado con un perfil intermedio.
13. Siguiendo la vía de las proteínas con zinc se desarrollaron otras dos insulinas que se emplearían en clínica. En 1942 sería la histona zinc insulina y en 1944 la insulina globina zinc. Tenían una acción algo más corta que la PZI pero eran más económicas. Desaparecieron cuando, a nivel comercial, fueron desplazadas por la NPH y las del grupo Lente.

14. En 1946 Nordisk descubre la insulina protamina isofánica neutra Hagedorn o insulina NPH. Se comercializa en 1950. Era una modificación de la PZI más estable, que tenía una duración intermedia. Además, se podía premezclar con la insulina rápida en la misma jeringuilla o vial. Una ventaja frente a las demás. Su versión humana es la única, aparte de las rápidas, que ha llegado hasta nuestros días para uso en medicina.
15. En 1952 Lilly puso en el mercado estadounidense una insulina más concentrada, la U-500, para aquellos pacientes que precisaban una gran cantidad de la misma. Se descubrió que, a mayores, la insulina rápida a esa concentración se comporta en cuanto a duración como una insulina intermedia/larga. Su versión humana sigue en el mercado en la actualidad, aunque sólo en Estados Unidos.
16. En 1953 Novo comercializó las insulinas Lente. Usando tan sólo el zinc lograron distintas duraciones por medio de sucesivas cristalizaciones lo que evitaba añadir proteínas extrañas. Había tres: la corta (amorfa o Semilente), la larga (cristalizada o Ultralente) y la intermedia (Lente) que era una mezcla de las dos anteriores en una proporción 3 a 7. Han llegado hasta nuestros días, si bien sólo para uso veterinario.
17. Con el desarrollo por Novo en 1973 de las insulinas ultrapurificadas se pudo constatar que las impurezas de la insulina prolongaban su tiempo de acción pues las nuevas insulinas “limpias” tenían una acción algo más corta. Estaba claro que alguna proteína pancreática que se colaba en el sobrenadante aumentaba su vida media.
18. La “humanización” de las insulinas las hizo perder parte de su tiempo de acción. En algunos casos, como con las insulinas del grupo Lente, prácticamente se redujo a la mitad. Esa fue la causa fundamental de su desaparición.
19. La insulina porcina y la bovina se pueden incluir dentro del grupo de los análogos de insulina humana. Difieren de ella en uno y tres aminoácidos respectivamente. Eso va a producir unos mecanismos de contrarregulación diferentes que conllevan a unas características farmacocinéticas distintas.

20. Las insulinas de origen animal podrían ser una alternativa en las zonas económicamente deprimidas y en aquellas donde la insulina humana y los análogos tienen un precio desorbitado. Habría muchos diabéticos que lograrían un buen control con ellas sin mayores efectos secundarios. Además, con la tecnología actual, se solventaría fácilmente, si se quisiera, el problema de las impurezas y de la irregularidad en su concentración, fuente de muchos de sus efectos secundarios y de su variabilidad de acción.

21. La insulina es un ejemplo de como se le supone a un fármaco, a todas luces muy útil en su campo, unas acciones que no posee por una teorización irresponsable sin una base científica. Por ello se utilizó en numerosos campos de la medicina a día de hoy abandonados.

8. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

La primera pregunta que surge de todo lo expuesto es ¿cómo es que nadie ha investigado el papel de las viejas insulinas porcinas y bovinas, ultrapurificadas con los medios del siglo XXI, en el tratamiento de la diabetes? Es cierto que las dos disponibles, de uso veterinario, son más caras que algunos análogos humanos. Pero también es verdad que los medicamentos para uso animal, cuando se dirigen a animales pequeños, tienen unos precios en exceso hinchados, lo que hace que muchos dueños de mascotas usen medicamentos fabricados para empleo humano. Por ello suponemos que si dieran un buen resultado, y nada hace suponer que no, serían una alternativa barata frente a la insulina humana y, no digamos, frente a los análogos de insulina sintéticos. Es cierto que, después de tantos años, estas insulinas no son patentables y que, si alguien pagara un estudio y éste arrojara unas conclusiones positivas, cualquiera que las fabricara se beneficiaría de sus resultados sin haber aportado nada de capital en la investigación. Por ello, esta primera posible futura línea de investigación probablemente sólo sería factible con una financiación pública.

Otra línea de investigación que seguiría, de forma lógica, a este trabajo sería la historia de la insulina desde los años ochenta hasta nuestros días. Evidentemente debería hacer hincapié en las insulinas desechadas por el camino más que en las comercializadas, de las que ya existen excelentes revisiones, muchas de ellas citadas en nuestra bibliografía. Para llegar a las actuales Lispro, Aspart, Glulisina, Detemir, Glargina y Degludec han quedado muchos análogos por el camino, bien por problemas tanto de tumores como de toxicidad hepática, bien por una ineffectividad terapéutica. Este trabajo sería en cierta forma un tanto detectivesco, pues muchos de los resultados de estas sustancias duermen en la zona “top secret” de los laboratorios farmacéuticos. Algo lógico para no reconocer el enorme esfuerzo económico empleado para lograr tan solo un resultado fallido, algo que a nivel empresarial podría producir un desplome en la bolsa de las acciones de la empresa. El último, y más conocido, es lo ocurrido con la insulina Peg-lispro de Lilly, retirada en fase III por sus problemas hepáticos. Iba a ser el “buque insignia” de su catálogo de insulinas. Al final se han tenido que conformar con un biosimilar de la insulina glargina de la competencia. Este fracaso es conocido pues es sabido que, desde hace unos años, cualquier trabajo de investigación que quiera ser publicado en las principales revistas médicas debe de inscribirse antes de su inicio en el registro “ClinicalTrials.gov” de la U.S. National Library of Medicine, dependiente del National Institutes of Health (NIH). No obstante, es de suponer que, a mayores, muchas insulinas se hayan descartado ya en la fase de ensayos en animales y no hayan llegado a dicho registro.

La posible línea sería el estudio sobre el empleo de lípidos para el desarrollo de las insulinas prolongadas de origen porcino o bovino, que inicialmente no dio sus frutos. Aunque parezca aún pendiente realmente en parte ya está desarrollado, pero sobre modificaciones de la insulina humana. Tanto la insulina Detemir como la Degludec, que emplean esta vía, han eliminado el aminoácido B30. Dado que la insulina humana y la de cerdo sólo se diferencian en dicho aminoácido, al no estar presente, ambos análogos se pueden considerar un desarrollo tanto de la insulina humana como de la porcina. Por lo que podemos afirmar que, finalmente, la insulina de cerdo si tenía una vía lipídica para prolongar su tiempo de acción realmente efectiva y aplicable en la clínica.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abel JJ. Crystalline insulin. Proc Natl Acad Sci USA. 1926; 12: 132-136.

Ackner B; Harris A, Oldham AJ. Insulin treatment of schizophrenia. Lancet. 1957; 269: 607-611.

Akiyama K, Yamaguchi N, Otsuka R. A new method of insulin-shock therapy. Lente insulin treatment on schizophrenic patients. Folia Psychiatr Neurol Jpn. 1958; 13: 1-8.

Ali H, Anwar M, Ahmad T and Chand N. diabetes mellitus from antiquity to present scenario and contribution of Greco-Arab physicians. JISHIM. 2006; 5: 46-50.

Allan FN. The writings of Thomas Willis: Diabetes 300 years ago. Diabetes. 1953; 2: 74-78.

Allan FN. Diabetes before and after insulin. Med Hist. 1972; 16: 266-273.

Álvarez Torices JC. La diabetes en la antigüedad. Diabetes Práctica. 2017. [Acceso el 17 de febrero de 2018]. Disponible en:

<http://www.diabetespractica.com/public/misc/index/historia/1>

American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2007. Diabetes Care. 2008; 31: 596-615.

American Diabetes Association. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. Diabetes Care. 2013; 36: 1033-1046.

Bailey CC, Marble A. histone zinc insulin, globin (zinc) insulin and clear protamine zinc insulin. A comparative study of their action. JAMA. 1942; 118: 683-690.

Ballani P, Tran MT, Navar MD, Davidson MB. Clinical experience with U-500 regular insulin in obese, markedly insulin-resistant type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2006; 29: 2504-2505.

Banting FG. The story of insulin. Br Med J. 1928; 2: 852-853.

Banting FG, Best CH. The internal secretion of the pancreas. J Lab Clin Med. 1922; 7: 256-271.

Banting FG; Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. CMAJ. 1922; 12: 141-146.

Banting FG, Best CH, Collip JB, Macleod JJR, Noble EC. The effect of pancreatic extract (insulin) on normal rabbits. *Am J Physiol.* 1922; 62: 162-176.

Barker PP. Insulin versus metrazol. *J Natl Med Assoc.* 1939; 31: 119-120.

Barnes CA, Cuttle TD, Duncan GG. Histone zinc insulin-its pharmacologic characteristics and its application in the treatment of diabetes mellitus. *J Pharmacol Exp Ther.* 1941; 72: 331-343.

Beaser SB. Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 1954; 251: 737-743.

Belmonte MM, Colle E, de Belle R, Murthy DYN. Variability of NPH insulin preparations. *CMAJ.* 1971; 104: 133-138.

Beltrán OA. Revisión sistemática de la literatura. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2005; 20: 60-69.

Berson SA, Yalow RS. Insulin in blood and insulin antibodies. *Am J Med.* 1966; 40: 676-690.

Best CH. A brief review of certain physiological properties of insulin. *CMAJ.* 1930; 23: 141-145.

Best CH. The Prolongation of Insulin Action. *Ohio J Sci.* 1937; 37: 362-377.

Best CH, Scott DA. The preparation of insulin. *J Biol Chem.* 1923; 57: 709-723.

Binder C, Lauritzen T, Faber O. Insulin pharmacokinetics. *Diabetes Care.* 1984; 7: 188-199.

Blanco Soler C. Diabetes de los viejos. *Rev Clin Esp.* 1952; 14: 1-8.

Blatherwick NR, Bischoff F, Maxwell LC, Berger J, Sahyun M. Studies on insulin. *J Biol Chem.* 1927; 72:57-89.

Bloom SR, Adrian TE, Mitchell SJ, Barnes AJ, Kohner EM. Dirty insulin, a stimulant to autoimmunity. *Diabetologia.* 1976; 12: 381.

Bojo Canales C, Fraga Medín C, Hernández Villegas S, Jaén Casquero MB, Jiménez Planet V, Mohedano Macías L et al. *Internet Visible e Invisible: búsqueda y selección de recursos de información en Ciencias de la Salud.* Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2004.

Borgoño CA, Zinman B. Insulins: past, present, and future. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 2012; 1-24.

Brahn B. Decurvon: a pectin-insulin with protracted action. *Lancet.* 1940; 235: 1078-1080.

Brange J. Galenics of Insulin. The physico-chemical and pharmaceutical aspects of insulin and insulin preparations. Springer-Verlag, Berlín. 1987.

Broussard JD, Peterson ME. Comparison of two Ultralente insulin preparations with protamine zinc insulin in clinically normal cats. *Am J Vet Res.* 1994; 55: 127-131.

Bruni B, D'Alberto M, Osenda M, Ricci C, Turco GL. Clinical trial with monocomponent Lente insulins. *Diabetologia.* 1973; 9: 492-498.

Buchanan KD, Imrie AH. Observations on the lente insulins. *Scott Med J.* 1964; 9: 89-95.

Burgess N, Campbell JMH, Osman AA, Payne WW, Lond BS, Poulton EP. Early experiences with insulin in the treatment of diabetes mellitus. *Lancet.* 1923; 202: 777-782.

Burnham DKB. Insulin and insulin mixtures - NPH insulin. *Calif Med.* 1951; 75: 412-415.

Butler AM. The treatment of juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1940; 223: 900-903.

Callis HA. Insulin treatment of diabetes. *J Natl Med Assoc.* 1924; 16: 91-93.

Calvet F, Roca R, Da Vila E. Contribución a la farmacología de las insulinas retardadas. *Rev Clin Esp.* 1941; 2: 247 - 250.

Cameron AT. The search for insulin substitutes. *CMAJ.* 1928; 18: 69-71.

Campbell RK. The New Purified Insulins. *American Pharmacy.* 1981; 21: 335-338.

Campbell WR. The indications for the use of insulin. *CMAJ.* 1930; 22: 188-192.

Carter AW, Heinemann L. Insulin concentration in vials randomly purchased in pharmacies in the United States: considerable loss in the cold supply chain. *J Diabetes Sci Technol.* First Published December 21, 2017. [Acceso el 17 de enero de 2018]. <https://doi.org/10.1177/1932296817747292>

Caven WR. The use of insulin in urticaria. *CMAJ*. 1938; 38: 459-460.

Cavero-Redondo I, Peleteiro B, Álvarez-Bueno C, Garrido-Miguel M, Artero EG, Martínez-Vizcaíno V. The effects of physical activity interventions on glycated haemoglobin A1C in non-diabetic populations: a protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2017; 7:e015801. DOI:10.1136/bmjopen-2016-015801.

Cefalu WT, Dawes DE, Gavlak G, Goldman D, Herman WH, Van Nuys K et al. for the Insulin Access and Affordability Working Group. Insulin Access and Affordability Working Group: Conclusions and Recommendations. *Diabetes Care*. 2018 Jun; 41: 1299-1311.

Chance GW. Outpatient management of diabetic children. *Br Med J*. 1969; 2: 493-495.

Chiquete E; Nuño González P; Panduro Cerda A. Perspectiva histórica de la diabetes mellitus. *Comprendiendo la enfermedad. Investigación en Salud, Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Guadalajara, México*. 2001. 3: 5-10.

Christopoulou-Aletra H, Papavramidou N. 'Diabetes' as described by Byzantine writers from the fourth to the ninth century AD: the Graeco-Roman influence. *Diabetologia*. 2008; 51: 892-896.

Clarke FB, Munro JF, Duncan LJP. Time-action studies and clinical trial of Actrapid and Crystal II Novo insulins. *Br Med J*. 1965; 2; 265-267.

Cochran E. U-500 Insulin: when more with less yields success. *Diabetes Spectrum* 2009; 22: 116-122.

Cochran E, Gorden P: Use of U-500 insulin in the treatment of severe insulin resistance. *Insulin*. 2008; 3: 211-218.

Cochran E, Musso C, Gorden P. The use of U-500 in patients with extreme insulin resistance. *Diabetes Care*. 2005; 28: 1240-1244.

Collip JB. The original method as used for the isolation of insulin in semipure form for the treatment of the first clinical cases. *J Biol Chem*. 1923; 55: 40-41.

Collens WS, Boas LC, Zilinsky JD. The Dangers of Modern Insulin Syringes. *N Engl J Med*. 1946; 234: 367-369.

Colwell AR. Nature and time action of modifications of protamine zinc insulin. Arch Int Med. 1944; 74: 331-345.

Colwell AR. Progress report on Lente insulin. Diabetes. 1955; 4: 419-420.

Colwell AR, Izzo JL, Stryker WA. Intermediate action of mixtures of soluble insulin and protamine zinc insulin. Arch Intern Med. 1942; 69: 931-951.

Copeman WSC. Treatment of true rheumatoid arthritis by blood transfusion and insulin. Br Med J. 1931; 2: 1130-1132.

Crespo C, Brosa M, Soria-Juan A, Lopez-Albad A, López-Martínez A, Soria B. Costes directos de la diabetes mellitus y de sus complicaciones en España (Estudio SECCAID: Spain estimated cost Ciberdem-Cabimerin Diabetes). Av Diabetol. 2013; 29: 182-189.

Crosby AB. Advancement in Insulin Therapy. Dalhousie Medical Journal. 1939; 4: 9-13.

Dailey AM, Williams S, Taneja D, Tannock LR. Clinical efficacy and patient satisfaction with u-500 insulin use. Diabetes Res Clin Pract. 2010; 88: 259-264.

Davidson MB, Navar MD, Echeverry D, Duran P. U-500 regular insulin. Clinical experience and pharmacokinetics in obese, severely insulin-resistant type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2010; 33: 281-283.

Day RA. Cómo escribir y publicar trabajos científicos (3ª ed.). Washington, DC: Organización Panamericana de Salud. 2005.

De Jongh ES, Laqueur E. Einfluss des Trockengehalts (Reinheitsgrad) auf die Wirkung des Insulins. Biochem Zeit; 1925, 163, 371.

De la Peña A, Riddle M, Morrow LA, Jiang HH, Linnebjerg H, Scott A et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of high-dose human regular U-500 insulin versus human regular U-100 insulin in healthy obese subjects. Diabetes Care. 2011; 34: 2496-2501.

De Leiva Hidalgo A, Brugués Brugués E, De Leiva Pérez A. From pancreatic extracts to artificial pancreas: History, science and controversies about the discovery of the pancreatic antidiabetic hormone. I: The Pioneers. Av Diabetol. 2009; 25: 62-69.

De Leiva Hidalgo A, de Leiva Pérez A, Brugués Brugués E. From pancreatic extracts to artificial pancreas: History, science and controversies about the discovery of the pancreatic antidiabetic hormone. II: Nicolae C. Paulescu: The discovery of pancreine. *Av Diabetol.* 2009; 25: 154-162.

De Meyer J. Action de la secretion interne du pancreas sur differents organes et, en particulier, sur la secretion renale. *Archivio di Physiologia.* 1909, 7: 96-99.

De Oya JC. Las insulinas de efecto prolongado. *Rev Clin Esp.* 1940; 1: 170-174.

De Palacios Mateos JM. La insulina. Tratamientos futuros de la diabetes. Otras medidas terapéuticas. En: *Endocrinología y metabolismo en la práctica médica.* Madrid. 3ª Edición. 1981. Editorial Paz Montalvo. Pp: 872-878.

Deckert T, Andersen OO, Poulsen JE. The Clinical Significance of Highly Purified Pig-Insulin Preparations. *Diabetologia.* 1974; 10: 703-708.

Diccionario Español de Especialidades Farmacéuticas. DEDEF. 1969. San Sebastián. Pp: 829-831.

Doisy EA, Somogyi M, Shaffer PA. On the preparation and properties of insulin. *J Biol Chem.* 1923; 55: 31.

Dolger H. The management of insulin allergy and insulin resistance in diabetes mellitus. *Med Clin North Am.* 1952; 36: 783-790.

Don CSD. The progress of insulin diabetics on a liberal carbohydrate diet. *Br Med J.* 1932; 2: 52-53.

Dowling PM. Insulin therapy for dogs and cats. *Can Vet J.* 1995; 36: 577-579.

Drinker KR, Fehnel JW, Marsh M. The normal excretion of zinc in the urine and faeces of man. *J Biol Chem.* 1927; 72: 375- 379.

Dudley HW. Insulin from the cod fish. The direct application of picric acid to the islet tissue. *Biochem J.* 1924; 18: 665-668.

Dukan E, Milne I. History of diabetes. *J R Coll Physicians Edinb.* 2011; 41: 376-377.

Dunn JS, McLetchie NGB. Experimental alloxan diabetes in the rat. *Lancet.* 1943. 242: 384-387.

Dwivedi G, Dwivedi S. Sushruta - the clinician - teacher par excellence. Indian J Chest Dis Allied Sci. 2007; 49: 243-244.

Easton NL. The insulin shock treatment of schizophrenia. CMAJ. 1938; 39: 229-236.

Eknoyan G, Nagy J. A history of diabetes mellitus or how a disease of the kidneys evolved into a kidney disease. Adv Chronic Kidney Dis. 2005; 12: 223-229.

Ellman P. Pulmonary tuberculosis treated with insulin. Proc R Soc Med. 1932; 26: 142-144.

Ellman P. Bilateral pulmonary tuberculosis treated by: (a) partial artificial pneumothorax for the right lung; (b) thoracoplasty for the left lung; (c) insulin. Proc R Soc Med. 1936; 29: 1221-1222.

Eli Lilly and Company. U.S. Food and Drug Administration Approves Humulin® R U-500 KwikPen®. 2016. [Acceso el 14 de enero de 2018]. Disponible en: <https://investor.lilly.com/releasedetail.cfm?releaseid=951175>.

Engleson G. Insulin Novo Lente in one daily injection in diabetes in children. Nordisk Medicin. 1953; 16: 1008-1012.

Ernstene AC, Altschule MD. The effect of insulin hypoglycemia on the circulation. J Clin Invest. 1931; 10: 521-552.

Eschwege E, Job D, Guyot-Argenton C, Aubry JP, Tchobroutsky G. Delayed progression of diabetic retinopathy by divided insulin administration: a further follow-up. Diabetologia. 1979; 16: 13-15.

European Medicines Agency. Abasaglar. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2014. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002835/WC500175381.pdf

European Medicines Agency. Apidra. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2009a. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000557/WC500025250.pdf.

European Medicines Agency. Humalog. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2006. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000088/WC500050332.pdf.

European Medicines Agency. Lantus. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2015a. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000284/WC500036082.pdf

European Medicines Agency. Levemir. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2009c. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000528/WC500036662.pdf.

European Medicines Agency. Monotard. Scientific discussion. 2005.

European Medicines Agency. Novorapid. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2009b. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000258/WC500030372.pdf.

European Medicines Agency. Novomix. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2010. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000308/WC500029441.pdf.

European Medicines Agency. Prozinc. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2017a. [Acceso el 20 de noviembre de 2017]. En: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/veterinary/002634/WC500147211.pdf

European Medicines Agency. Ryzodeg. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2017b. [Acceso el 5 de enero de 2018]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002499/WC500139011.pdf

European Medicines Agency. Toujeo. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2015b. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000309/WC500047935.pdf.

European Medicines Agency. Tresiba. Ficha técnica o resumen de las características del producto. 2017c. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002498/WC500138940.pdf.

Feigenbaum J. Some unusual manifestations of the insulin reaction. *CMAJ*. 1932; 26: 410-413.

Feinblatt HM, Ferguson EA, Alpert B. Hexamine insulin juvenile type of diabetes treated with hexamethylene tetramine insulin compound giving rapid and sustained action. *Endocrinology*. 1940; 26: 437-443.

Ferguson AW. The use of the insulin zinc suspensions in diabetic children. *Arch Dis Child*. 1954; 29: 436-442.

Ferguson IC, Buchanan J, Murray I. Insulin zinc suspension after ten years. *Br Med J*. 1964; 1: 275-278.

Ferreira González I, Urrútia G, Alonso-Coello P. Revisión sistemática y metaanálisis: bases conceptuales e interpretación. *Rev Esp Cardiol*. 2011; 64: 688-696.

Feudtner J.C. *Bittersweet: diabetes, insulin, and the transformation of illness*. Chapel Hill: University of North Carolina Press, 2003.

Fink M, Shaw R, Gross GE, Coleman FS. Comparative study of chlorpromazine and insulin coma in therapy of psychosis. *JAMA*. 1958; 166: 1846-1850.

Fisher AM. Insulin preparations. *CMAJ*. 1955; 73: 1-8.

Fisher AM, Scott DA. CXXXII. Zinc content of bovine pancreas. *Biochem J*. 1935; 29: 1055-1058.

Fisher NF. The absorption of insulin from the intestine, vagina, and scrotal sac. *Am J Physiol*. 1923; 67: 65-71.

Fitz RH, Joslin EP. Diabetes mellitus at the Massachusetts General Hospital from 1824 to 1898. *JAMA*. 1898, 31, 165-171.

Fossati P. Edouard Laguesse à Lille en 1893 crée le terme "endocrine" et ouvre l'ère de l'endocrinologie. *Hist Sci Med*. 2004; 38: 433-439.

Freudenberg JR, Cannon AT. A Year's Experience of Insulin Therapy in Schizophrenia. *Proc R Soc Med*. 1938; 31: 578-584

Friedlander RD, Shepardson HC. Zinc insulin crystals (crystalline insulin). *Cal West Med*. 1939; 50: 252-253.

Gaceta Médica. Día mundial de la diabetes. Los costes directos de la diabetes representan el 8,2% del gasto sanitario total en España. GacetaMédica.com. 2018. [Acceso el 10 de febrero de 2018] Disponible en http://www.gacetamedica.com/hemeroteca/los-costes-directos-de-la-diabetes-representan-el-8-2-del-gasto-sanitario-total-en-espana-IXLG_788330

Gänsslen M. Uber inhalation von insulin. Klin Wochenschr. 1925; 4: 71.

Garrison FH. Historical aspects of diabetes and insulin. Bull N Y Acad Med. 1925; 1: 127-133.

Gemmill CL. The Greek concept of diabetes. Bull NY Acad Med. 1972; 48: 1033-1036.

Gerritzen F. The duration of the action of different insulins. Br Med J. 1952; 1: 249-250.

Gerritzen F. The classification of various insulins. Br Med J. 1953; 2: 1030-1031.

Geyelin HR, Harrop G, Murray MF, Corwin E. The use of insulin in juvenile diabetes. J Metabolic Res. 1922; 2: 767-792.

Ghosh JC, Bask NG, Badam I. Assay of globin-insulin preparations. Curr Sci. 1947; 16: 352-353.

Giráldez Dávila A. Breve historia de la experimentación animal. Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia. Lecturas Singulares número 6. Madrid. 2008. [Acceso el 3 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.analesranf.com/index.php/lectur/article/viewFile/34/73>

Gisbert JP, Bonfill X. ¿Cómo realizar, evaluar y utilizar revisiones sistemáticas y metaanálisis? Gastroenterol Hepatol. 2004; 27: 129-149.

Glasziou P, Chalmers I, Rawlins M, McCulloch P. When are randomised trials unnecessary? Picking signal from noise. Br Med J. 2007; 334: 349-351.

Glendening MB, Greenberg DM, Fraenkel-Conrat H. Biologically active insulin sulfate. J Biol Chem. 1947; 167: 125-128.

Goldblatt MW, Ellis RWB. XXIX. The effect of insulin on growth, nitrogen excretion and respiratory metabolism. Biochem J. 1931; 5: 221-235.

Goldfarb W, Bowman KM, Parker S. The treatment of acute alcoholism with glucose and insulin. J Clin Invest. 1939; 8: 581-584.

Goldner MG, Clark DE.: The insulin requirement of man after total pancreatectomy. *J Clin Endocrinol.* 1944; 4: 194-197.

Goth A. Insulina y drogas antidiabéticas por vía bucal. En: *Farmacología médica. Principios y conceptos.* 7ª Edición. España. Editorial Interamericana. 1975. Pp: 399-408.

Gray PA, Bischoff F, Sansum WD. Treatment of diabetes mellitus with insoluble insulin compounds: ii. Histone-insulin (II. Histone-insulin). *Ann Intern Med.* 1937; 11: 274-284.

Gualandi-Signorini AM, Giorgi G. Insulin formulations - a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2001; 5: 73-83.

Gurd FB. Postoperative use of insulin in the nondiabetic with special reference to wound healing. *Ann Surg.* 1937; 106: 761-769.

Gurling KJ, Robertson JA, Whittaker H, Oakley W, Lawrence RD. Treatment of diabetes mellitus with insulin zinc suspension. *Br Med J.* 1955; 1: 71-74.

Hagedorn HC, Jensen BN, Krarup NB, Wodstrup I. Protamine insulinate. *JAMA.* 1936; 106: 177-180.

Haist RE, Campbell J, Best CH. The prevention of diabetes. *New Engl J Med.* 1940; 223: 607-15.

Haldane JBS, Kay HD, Smith W. The effect of insulin on blood volume. *J Physiol.* 1924; 59: 193-199.

Hale D. Novo Nordisk History. Corporate Communications Ed. Denmark. 2002.

Hallas-Møller K. The lente insulins. *Diabetes.* 1956; 5:7-14.

Hallas-Møller K, Petersen K, Schlichtkrull J. Crystalline and amorphous insulin-zinc compounds with prolonged action. *Science.* 1952; 116: 394-398.

Hardy RM. Diabetes mellitus en el perro y en el gato. *Revista de AVEPA.* 1988; 8: 71-88.

Harington CR, Neuberger A. CXIX. Electrometric titration of insulin. Preparation and properties of iodinated insulin. *Biochem J.* 1936; 30: 809-820.

Harrison GA. Insulin in alcoholic solution by the mouth. Br Med J. 1923; 2: 1204-1205.

Haunz EA. Clinical evaluation of Lente insulin in one hundred nine diabetic patients. JAMA. 1955; 159: 1611-1618.

Hazard J, Perlemuter L. Manual de endocrinología. Toray-Masson SA, Barcelona. 1981.

Heding LG, Larsson Y, Ludvigsson J. The immunogenicity of insulin preparation. Antibody levels before and after transfer to highly purified porcine insulin. Diabetologia. 1980; 19: 511-515.

Heinemann L. The Failure of Exubera: Are We Beating a Dead Horse? J Diabetes Sci Technol. 2008; 2: 518-529.

Heller VG, Burke AD. Toxicity of zinc. J Biol Chem. 1927, 74: 85-93.

Hermosilla AS. Paleopatología humana. FICEM: Fundación Instituto Campomanes de Estudios Medievales. 2013. [Acceso el 3 de enero de 2018]. Disponible en: http://ficem.es/wp-content/uploads/2013/04/PALEOPATOLOGIA-2013_03_26-1.pdf

Hernández Jáuregui R. Prolonged effects of unaltered insulin of high concentration: U-500 unmodified insulin, Lilly. Medicina (Mex). 1959; 39: 185-191.

Hernández Mijares A, Solá Izquierdo E, García Malpartida K, Verge D. Seguridad de los análogos de insulina: qué evaluar, cómo hacerlo y cómo interpretar los resultados. Endocrinol Nutr. 2010; 57: 376-380.

Heubner W, de Jongh S, Laquer E. Uber inhalation von insulin. Klin Wochenschr. 1924; 3: 2342-2343.

Higgins JPT, Green S. (Eds.) (2008). Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Chichester, UK: Wiley-Blackwell.

Himsworth HP. The mechanism of diabetes mellitus. Lancet. 1939; 234: 171-176.

Hirschler B. Poor sales prompt Sanofi to pull plug on Mannkind inhaled insulin. Reuters. 2016. Acceso el 2 de enero de 2018. Disponible en: <https://www.reuters.com/article/us-sanofi-mannkind/poor-sales-prompt-sanofi-to-pull-plug-on-mannkind-inhaled-insulin-idUSKBN0UJ1KO20160105>

Hirsh B. Standardization of insulin. *Br Med J.* 1958; 1: 828-829.

Hirst J. 30 years of synthetic insulin, are people with diabetes getting the best deal? Insulin Dependent Diabetes Trust, Northampton, United Kingdom. 2007. 1-16. [Acceso el 3 de enero de 2018]. Disponible en: <https://www.iddt.org/wp-content/uploads/2009/10/30-year-report-oct-2007.pdf>.

Ho L, Robertson M. El Yin y Yang de la diabetes [sede Web]. Fundación Europea de Medicina Tradicional China (FMETC). 2018. [Acceso el 14 de enero de 2018]. Disponible en <https://fundacion.mtc.es/newsletter-mtc.php?63-yin-yang-diabetes->

Hodgkin DC. "Dorothy Crowfoot Hodgkin - Nobel lecture: the x-ray analysis of complicated molecules". Nobelprize.org. Nobel Media AB 2014. Web. [Acceso el 18 de noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1964/hodgkin-lecture.html

Hodgson AJ. Diabetes Mellitus. *CMAJ.* 1912; 2: 874-891.

Holcomb B, Page OC, Stephens JW. Lente insulin, clinical study of a new insulin zinc preparation of prolonged action. *Northwest Med.* 1954; 53: 239-241.

Holland G, Weyer M. Treatment of diabetes mellitus with depot insulin (deposulin). *Munch Med Wochenschr.* 1938; 85: 215-218.

Huerta R. Psiquiatría y literatura en la España de la transición: los renglones torcidos de Dios (1979). *Rev Latinoam Psicopat Fund São Paulo.* 2017; 20: 142-164.

Hunter AR. Insulin as a dressing for chronic indolent ulcers. *Br Med J.* 1939; 1: 773-774.

Hvidt S. Insulin association in neutral solutions studied by light scattering. *Biophys Chem.* 1991; 39: 205-213.

Izzo JL. Insulin-zinc suspensions. Further studies, with emphasis on lente insulin. *Am J Med.* 1956; 20: 554-563.

Izzo JL, Crump SL, Kunz W. A clinical comparison of modified insulins. *J Clin Invest.* 1950; 29: 1514-1527.

Jácome Roca A. Diabetes en Colombia. Recuento histórico y bibliográfico. Primera Edición. Academia Nacional de Medicina. Bogotá, Colombia. 2004.

Jácome Roca AJ. Diabetes en la era preinsulínica. *Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo*. 2016; 3: 22-25.

Jamieson M, Lacey AH, Fisher AM. NPH insulin. *CMAJ*. 1951; 65: 20-23.

Jenkinson CN, Milne KJG. Insulin-tannic acid-zinc suspension in treatment of diabetes mellitus. *Br Med J*. 1938; 1: 380-382.

Jensen H, Schock E, Sollers E. Studies on crystalline insulin XVI: the action of ammonium hydroxide and of iodine on insulin. *J Biol Chem*. 1932; 98: 93-99.

Jersild M: Insulin zinc suspension; four years' experience. *Lancet*. 1956; 271: 1009-1013.

Johlin JM. The attenuation of insulin by adsorption. *Endocrinology*. 1941; 29: 574-576.

Johnson E. Insulin shock treatment in schizophrenia. *CMAJ*. 1939; 41: 64-66.

Jolles S. Paul Langerhans. *J Clin Pathol*. 2002; 55: 243.

Jones K. Insulin coma therapy in schizophrenia. *J R Soc Med*. 2000; 93:147-149.

Jørgensen KH, Hansen AK, Buschard K. Five fold increase of insulin concentration delays the absorption of subcutaneously injected human insulin suspensions in pigs. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000; 50: 161-167.

Joslin EP. Insulin, old and new, in the treatment of diabetes. *CMAJ*. 1936; 35: 526-531.

Joslin EP. Protamine insulin. Clinical lecture at Atlantic City session. *JAMA*. 1937; 109: 497-503.

Joslin EP. The use of insulin in its various forms in the treatment of diabetes. *Bull N Y Acad Med*. 1942; 18: 200-216.

Kahn CR, Roth J. Berson, Yalow and the JCI: the agony and the ecstasy. *J Clin Invest*. 2004; 114: 1051-1054.

Karamanou M, Protogerou A, Tsoucalas G, Androutsos G and Poulakou-Rebelakou E. Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World J Diabetes*. 2016; 7: 1-7.

Kerr RB, Best CH, Campbell WR, Fletcher AA. Protamine insulin. CMAJ. 1936; 34: 400-401.

Kepler EL. Clinical experience with protamine zinc insulin. JAMA. 1938; 110:92-96.

Kidd JG. Eugene Lindsay Opie, MD, 1873-1971. Am J Pathol. 1971; 65: 483-492.

Kleiner IS. The action of intravenous injections of pancreas emulsions in experimental diabetes. J Biol Chemistry. 1919; 40: 153-170.

Kraft JR. Diabetes History: sixteenth to nineteenth centuries. In: Kraft JR. Diabetes Epidemic & You. Trafford Publishing. 2008. Pp: 12-14.

Lacey AH. The unit of insulin. Diabetes. 1967; 16: 198-200.

Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. Sultan Qaboos Univ Med J. 2013; 13: 368-370.

Lancaster WM, Murray I. Further experience with the "lente" insulins. Br Med J. 1958; 1: 1331-1333.

Lande H. Present status of protamine insulin. Bull N Y Acad Med. 1939; 15: 273-281.

Larkin EH. Insulin shock treatment of schizophrenia. Br Med J. 1937; 1: 745-747.

Last JM. A dictionary of epidemiology. Oxford, UK: Oxford University Press. 2001.

Lawrence RD, Archer N. Zinc protamine insulin a clinical trial of the new preparation. Br Med J. 1937; 1: 487-491.

Lawrence RD. Zinc-protamine-insulin in diabetes. Treatment by one daily injection. Br Med J. 1939; 1: 1077-1080.

Lawrence RD. Globin-zinc-insulin: some experiments. Br Med J. 1943; 2: 103-104.

Lawrence RD, Oakley W. A new long-acting insulin; a preliminary trial of lente Novo insulin. Br Med J. 1953; 1:242-244.

League of Nations Health Organisation: The Biological Standardisation of Insulin, Including Reports on the Preparation of the International Standard and the Definition of the Unit. 1925: 1-71.

Lechat P. Medicaciones correctoras de los trastornos metabólicos. En: Manual de farmacología y terapéutica. Barcelona. 1980. Toray - Masson. Pp: 413-420.

Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51: 216-226.

Lestradet H. Historique de la découverte de l'insuline. *Hist Sci Med*. 1989; 27: 61-68.

Leyton O. The administration of insulin in suspension. *Lancet*. 1929; 213: 756-759.

Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *Br Med J*. 2009; 339: b2700.

Lilly. Lilly To Discontinue Four Insulin Products. Innovations in insulin therapy have led to declining use. 2005. [Acceso el 14 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://investor.lilly.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=168048>.

Litter M. Farmacología del metabolismo: Hidratos de carbono. En: Farmacología experimental y clínica. 6 Edición. Buenos Aires. Editorial Librería El Ateneo. 1980. Pp: 991-1006.

Little JA, Arnott JH. Sulfated insulin in mild, moderate, severe and insulin-resistant diabetes mellitus. *Diabetes*. 1966; 15: 457-465.

Little JA, Lee R, Sebrakova M, Csima A. Insulin antibodies and clinical complications in diabetics treated for five years with lente or sulfated insulin. *Diabetes*. 1977; 26: 980-988.

López Arrieta JM, Qizilbash N. La medicina basada en pruebas: revisiones sistemáticas. La Colaboración Cochrane. *Med Clin (Barc)* 1996; 107: 581-585.

López Briza E, Ruiz García V. Tratamiento de la intoxicación etílica aguda. *Semergen* 2006; 32: 146-148.

López Ibor JJ, Vela del Campo L. Tratamiento de la esquizofrenia por el cardiazol y la insulina. *Rev Clin Esp*. 1940; 1: 197-216.

López Ramón C, Ávalos García MI. Diabetes mellitus hacia una perspectiva social. *Rev Cub Salud Pública*. 2013; 39: 331-345.

MacBryde CM. Improved forms of insulin: advantages of modified protamine zinc insulin. *Calif Med*. 1947; 66: 79-83.

MacBryde CM, Roberts HK. A new modified protamine zinc insulin: comparison with histone zinc insulin, clear, and standard protamine zinc insulins. *J Clin Invest.* 1943; 22: 791-797.

MacDermon HE. Insulin and diabetes. *CMAJ.* 1927; 17: 1528.

Mack CW, Burch BO. Insulin shock therapy in dementia praecox: a report of a series of cases. *Cal West Med.* 1939; 50: 339-344.

Macleod H. The results of insulin therapy in diabetes mellitus. *Br Med J.* 1927; 2: 1015-1059.

Macleod JJR. Insulin and diabetes. A general statement of the physiological and therapeutic effects of insulin. *Br Med J.* 1922; 2: 833-835.

Macleod JJR. Insulin and the steps taken to secure an effective preparation. *CMAJ.* 1922; 12: 899-900.

Macleod JJR, Magee HE, Middleton W. Insulin and increase in weight of young animals. *Biochem J.* 1930; 24: 615-618.

MacPherson JN, Feely J. Insulin. *Br Med J.* 1990; 300: 731-736.

Maggiore AD, Nelson RW, Dennis J, Johnson E, Kass PH. Efficacy of protamine zinc recombinant human insulin for controlling hyperglycemia in dogs with diabetes mellitus. *J Vet Intern Med.* 2012; 26: 109-115.

Major RH. The intranasal application of insulin, experimental and clinical experiences. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 1935; 51: 21-27

Manchado Garabito R, Tamames Gómez S, López González M, Mohedano Macías L, D'Agostino, M Veiga De Cabo J. Revisión sistemática exploratoria. *Med Segur Trab (Internet).* 2009; 55: 12-19.

Manterola C, Astudillo P, Arias E, Claros N. Revisión sistemática de la literatura. Qué se debe saber acerca de ellas. *Cir Esp.* 2013; 91: 149-155.

Marble A, Vartiainen I. Crystalline insulin. *JAMA.* 1939; 113: 1303-1309.

Marble A, White P, Bogan IK, Smith RM. Enlargement of the liver in diabetic children. I. Its incidence and nature. *Arch Intern Med.* 1938; 62: 740-750.

Mark J, Biskind GR. The increased duration of insulin action by the use of protamine zinc insulin in pellet form. *Endocrinology*. 1940; 26: 444-448.

Markussen J, Damgaard U, Jørgensen KH, Sørensen E, Thim L. Human monocomponent insulin. Chemistry and characteristics. *Acta Med Scand. Suppl* 1983; 671: 99-105.

Martini E. On the action of precipitated insulin administered by mouth. *J Physiol*. 1931; 72: 199-200.

Marx H., Krause G. Zur Behandlung des diabetes mit Pyramidon. In: Géronne A. (eds) Fünfundvierzigster Kongress. Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin. J.F. Bergmann-Verlag, Munich. 1933. Pp 412-416.

McClatchey F. Remedios históricos para la diabetes. Beyond Type 1 [revista en Internet]. 2017 [Acceso el 27 de diciembre de 2017]. Disponible en <https://es.beyondtype1.org/remedios-historicos-para-la-diabetes/>

McCormick GE. The Discovery and Manufacture of Insulin. Eli Lilly and Company, Indianapolis. 1971.

McCormick NA, Macleod JJR, Noble E, O'Brien K. The influence of the nutritional condition of the animal on the hypoglycaemia produced by insulin. *J Physiol*. 1923; 57: 234-252.

McCullagh. Protamine-zinc-insulin in diabetes. *Ann Intern Med*. 1938; 11: 1079-1091.

Medical Research Council. Insulin available in this country. Conditions- of sale and precautions to be observed. *Br Med J*. 1923; 1: 695-696.

Melton G. Treatment with insulin zinc suspensions. *Br Med J*. 1954; 2: 448-449.

Mentzer SH, Dubray ES. Fatty atrophy from injections of insulin. *Cal West Med*. 1927; 26: 212.

Merino-Trujillo A. Como escribir documentos científicos (Parte 3). Artículo de revisión. *Salud En Tabasco*. 2011; 17: 36-40.

Mitchell PB, Kirkby KC. Biological therapies before the introduction of modern psychotropic drugs. En: López-Muñoz F, Alamo C, Domino EF (eds). *History of Psychopharmacology*. NPP Books. Madrid. 2014. Pp: 327-347.

Micks RH. Insulina y diabetes. En: Elementos de materia médica, farmacológica y terapéutica. 1ª Edición. Madrid. Editorial Alhambra SA. 1956. Pp: 331-347

Miles AA, Mussett MV, Perry WLM. Third International Standard for insulin. Bull World Hlth Org. 1952; 7: 445-459.

Mocon AR. From Marjorie to Leonard: Leaping the Clinical Hurdle of Insulin in 1922. UWOMJ. 2008; 78: 58-60.

Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M et al.: Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. Systematic Reviews. Br Med J. 2015; 350: g7647.

Moloney PJ, Aprile MA, Wilson S. Sulfated insulin for treatment of insulin-resistant diabetics. J New Drugs. 1964; 4: 258-263.

Moloney PJ, Findlay DM. Concentration of insulin by adsorption on benzoic acid. J Biol Chem. 1923; 57: 359-361.

Monnier L, Colette C. Insulines lentes aujourd'hui et demain: pour quels besoins non ou mal couverts? Médecine des maladies Métaboliques. 2014; 8: 133-140.

Montgomery DAD. Modern insulin and insulin therapy. Ulster Med J. 1978; 47: 39-43.

Mosenthal HO. Globin insulin with zinc in the treatment of diabetes mellitus. JAMA. 1944; 125: 483-488.

Mosenthal HO. La insulin globina. Bol Oficina Sanit Panam. 1944; 23: 688-690.

Mosenthal HO. Protamine zinc insulin; clinical application. JAMA. 1938, 110: 87-90.

Mosenthal HO, Mark MF. The prolonged use of protamine zinc insulin. JAMA. 1939; 113:17-22.

Mosenthal HO, Mark MF. Advantages of protamine zinc insulin: results in diabetes complicated by tuberculosis. JAMA. 1941; 116: 2652-2653.

Mukherjee SS. Study of a new modified insulin (Type N.P.H.). Ind Med Gaz. 1952; 87: 516-519.

Mulet JM. La historia de la insulina, 90 años salvando vidas. Cuaderno De Cultura Científica. 19 abril 2013. [Acceso 17 abril 2017]. Disponible en <https://culturacientifica.com/2013/04/19/la-historia-de-la-insulina-90-anos-salvando-vidas/>

Müller M. The insulin therapy of schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 1938; 94: 5-23.

Muñoz Páez A, Garritz A. Mujeres y química. Parte IV. Siglos XX y XXI. *Educ Quím*. 2013; 24: 326-334.

Murlin JR, Gibbs CBF, Romansky MJ, Steinhausen TB and Truax FL. Effectiveness of per-oral insulin in human diabetes. *J Clin Invest*. 1940; 19: 709-722.

Murlin JR, Kramer B. The influence of pancreatic and duodenal extracts on the glycosuria and the respiratory metabolism of depancreatized dogs. *J Biol Chem*. 1913; 15: 365-383.

Murnaghan JH, Talalay P. John Jacob Abel and the crystallization of insulin. *Perspectives in Biology and Medicine*. 1967; 10: 334-380.

Murray I, Wilson RB. The new insulins-lente, ultralente, and semilente. *Br Med J*. 2: 1953; 1023-1026.

Nabarro DJN, Stowers JM. The insulin zinc suspensions. *Br Med J*. 1953; 2: 1027-1030.

Nathan DM, Axelrod L, Flier JS, Carr DB. U-500 insulin in the treatment of antibody mediated insulin resistance. *Ann Intern Med*. 1981; 94: 653-656.

National Institute for Health Research. Inclusion criteria. PROSPERO. International prospective register of systematic reviews. Go to Register review. 2017. Acceso: 20/1/2017. Disponible en: <https://www.crd.york.ac.uk/prospero/#aboutpage>

Novo Nordisk A/S. Novo Nordisk history. 3rd revised edition, Bagsværd, Denmark. Novo Allé. 2011.

Noyes AA, Estill HW. Effect of insulin on the lactic fermentation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1924; 10: 415-418.

Oakley NW: Effect of "fractionated" insulins on total plasma insulin binding capacity and insulin requirement in severe diabetes. *Lancet*. 1976; 307: 994-996.

Oakley W. "Lente" insulin (insulin zinc suspension): further studies. Br Med J. 1953; 2: 1021-1023.

Oakley W. Lente insulin. Lancet. 1954; 263: 262.

Oakley W, Hill D, Oakley N. Combined use of regular and crystalline protamine (NPH) insulins in the treatment of severe diabetes. Diabetes. 1966; 15: 219-222.

Opie EL. Diabetes mellitus associated with hyaline degeneration of the islands of Langerhans of the pancreas. (Proceedings). Bull Johns Hopkins Hosp. 1901; 12: 263.

Organización Mundial de la Salud. Temas de Salud. Diabetes. 2018. [Acceso el 10 de marzo de 2017]. Disponible en http://www.who.int/topics/diabetes_mellitus/es/

Organización Panamericana de la Salud. Día Mundial de la Diabetes: una enfermedad que aumenta en las Américas. 2001 [acceso el 14 de abril de 2017]. Disponible en: http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=398:dia-mundial-diabetes-enfermedad-que-aumenta-americas&Itemid=215

Ortega Núñez A. Estado actual del tratamiento de la diabetes. Rev Clin Esp. 1953; 48: 182-196.

Owens DR. Insulin preparations with prolonged effect. Diabetes Technol Ther. 2011; 13 (Suppl 1): S5-S14.

Owens DR. Human Insulin: Clinical Pharmacological Studies in Normal Man. Ed Springer. The Netherlands. 2013.

Owens DR, Jones IR, Birtwell AJ, Burge CTR, Luzio S, Davies CJ et al. Study of porcine and human isophane (NPH) insulins in normal subjects. Diabetologia. 1984; 26: 261-265.

Páez AM, Garritz A. Mujeres y química. Parte IV. Siglos XX y XXI. Educ Quím. 2013; 24: 326-334.

Pal RK, Prasad S. Action of insulin on the heart and blood-pressure. J Physiol. 1934; 82: 154-159.

Paulesco NC. Action de l'extrait pancréatique injecté dans le sang chez un animal diabétique. CR Soc Biol (Paris). 1921; 85: 555.

Paulus AO, Colburn JA, True MW, Beckman DJ, Davis RP, Wardian LL et al. Evaluation of total daily dose and glycemic control for patients taking U-500 regular insulin admitted to the hospital. *Endocr Pract.* 2016; 22: 1187-1191.

Payne LG. Varicose ulcers and insulin. *CMAJ.* 1938; 38: 269-270.

Peck FB, Schechter JS. The newer insulin mixtures-a follow-up study. *Proceedings of the American Diabetes Association.* 1944; 4: 59-80.

Pérez F. John Jacob Abel. *Rev Chil Endocrinol Diabetes.* 2014; 7: 27.

Pérez F. George Zuelzer (1870-1949). *Rev Chil Endocrinol Diabetes.* 2016; 9: 136.

Peumery JJ. Etienne Lancereaux (1829-1910), sa vie, son oeuvre, ses découvertes scientifiques. *Hist Sci Med.* 1989; 23: 49-53.

Peumery JJ. Phase terminale du diabète à la période pré-insulinique. *Hist Sci Med.* 1993; 27: 279-284.

Polonsky KS. The Past 200 Years in Diabetes. *N Engl J Med.* 2012; 367: 1332-1340.

Prescrire. Insuline: harmonisation à 100 UI/ml au 30 mars 2000. *Prescrire Rédaction.* 2000; 204: 197.

Pugh DW. The indications for globin insulin. *Br Med J.* 1950; 2: 657-658.

Rabinowitch IM. Atrophy of subcutaneous fat following insulin injections. *CMAJ* 1928; 18: 560-561.

Rabinowitch IM. The dangers of protamine zinc insulin. *CMAJ.* 1939; 41: 5-12.

Rabinowitch IM, Foster JS, Fowler AF, Corcoran AC. Clinical experiences with protamine-zinc-insulin and other mixtures of zinc and insulin in diabetes mellitus. *CMAJ.* 1936 35: 239-252.

Rabinowitch IM, Fowler AF, Bensley EH, Gordon AL, Mountford M. Globin insulin. *CMAJ.* 1947; 56: 595-605.

Rabinowitch IM, Fowler AF, Corcoran AC. Further observations on the use of protamine zinc insulin in diabetes mellitus. *CMAJ.* 1937; 36: 111-129.

Rabinowitch IM, Fowler AF, Corcoran AC. Observations on the action of protamine and insulin in the treatment of diabetes mellitus. *CMAJ.* 1936; 35: 124-129.

Redacción BBC Mundo. 1 de cada 11 personas en el mundo ya tiene diabetes, advierte la OMS. 2016. [Acceso el 26 de noviembre de 2017]. Disponible en: http://www.bbc.com/mundo/noticias/2016/04/160406_salud_diabetes_oms_lb

Reese HH, Vander Veer A. Protamine zinc insulin: its unsuitability for hypoglycemic shock therapy. *Arch NeurPsych*. 1938; 39: 232-241.

Reiner LT, Lang EH. Insulin azo derivatives. *J Biol Chem*. 1941; 139: 641-648.

Reiner LT, Searle DS, Lang EH. Insulin preparations with prolonged activity: I. globin insulin. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1939; 40: 171

Reitz HC, Ferrel RE, Fraenkel-Conrat H, Olcott HS. Action of sulfating agents on proteins and model substances. I. concentrated sulfuric acid. *J Am Chem Soc*. 1946; 68: 1024-1031.

Rennie J, Fraser T. The islets of Langerhans in relation to diabetes. *Biochem J*. 1907; 2: 7-19.

Reusch CE. Which insulin in cats? Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich. ZORA. Disponible en: <https://doi.org/10.5167/uzh-100004>.

Reutrakul S, Wroblewski K, Brown RL. Clinical use of U-500 regular insulin: review and meta-analysis. *J Diabetes Sci Technol*. 2012; 6: 412-420.

Revel AJ. The modern concept of diabetes. *J Kans Med Soc*. 1940; 41: 8-12.

Riddle MC. Treatment of diabetes with insulin - from art to science. *West J Med*. 1983; 138: 838-846.

Robins B. Zinc insulin combinations. An alternative to multiple dosage insulin therapy. *J Med Soc New Jersey*. 1963; 60: 428-430.

Robinson JL. Myasthenia gravis greatly benefited by insulin as an adjunct to prostigmine. *CMAJ*. 1937; 37: 490-491.

Rodríguez-Arias B. Insulinoterapia de la esclerosis múltiple. *Rev Clin Esp*. 1953; 48: 228-231.

Rodríguez-Miñón JL. Las insulinas de acción lenta. Sus indicaciones y manejo en el tratamiento de la diabetes. *Rev Clin Esp*. 1943; 10: 56-64.

Rodríguez-Miñón JL. Nuestra experiencia terapéutica con las nuevas insulinas zinc. Rev Clin Esp. 1954; 54: 174-180.

Rodríguez-Miñón JL, Garrigues A. La insulina lenta: algunas particularidades de su manejo. Rev Clin Esp. 1959; 74: 226-227.

Roesner M, Sauer H. Klinische Erfahrungen mit NPH-Insulin. Dtsch med Wochenschr. 1976; 101: 886-889.

Rof Carballo J, Rodríguez-Miñón JL. Tratamiento del coma diabético. Rev Clin Esp. 1942; 5: 365-379.

Root HF: Protamine insulin in the treatment of diabetes mellitus. Trans Am Clin Climatol Assoc. 1936; 52: 40-51.

Rosenfeld L. Insulin: Discovery and controversy. Clin Chem. 2002; 48: 2270–2288.

Rosenthal L, Kamlet J. Studies on alum-precipitated insulin. Exp Biol Med. 1937; 36: 474-476.

Rossetti L, Smith D, Shulman GI, Papachristou D, DeFronzo RA. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. J Clin Invest. 1987; 79: 1510-1515.

Rothstein HR, Hopewell S. Grey literature. En H. Cooper, L.V. Hedges y J.C. Valentine (Eds.). The handbook of research synthesis and meta-analysis. 2ª ed. 2010. Nueva York: Russell Sage Foundation. Pp: 103-125.

Rowe AH. Insulin treatment of diabetes mellitus. Cal State J Med. 1923; 21: 204-208.

Rucinsky R, Cook A, Haley S, Nelson R, Zoran DL, Poundstone M. AAHA Diabetes Management Guidelines for Dogs and Cats. J Am Anim Hosp Assoc. 2010; 46: 215-224.

Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. Epidemiología clínica. Ciencia básica para la medicina clínica. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 1994. 2ª edición. Pp: 369-375.

Sakel M. The origin and nature of the hypoglycemic therapy of the psychoses. Bull N Y Acad Med. 1937; 13: 97-109.

Sakel M. Insulin therapy in the future of psychiatry. CMAJ. 1938; 39: 178-179.

Sánchez Meca J. Cómo realizar una revisión sistemática y un meta-análisis. *Aula Abierta*. 2010; 38: 53-64.

Sánchez Rivero G. Historia de la diabetes. *Gac Med Bol*. 2007; 30: 74-78.

Sanger F. Chemistry of insulin, determination of the structure of insulin opens the way to greater understanding of life processes. *Science*. 1959; 129: 1340-1344.

Sanofi. Hintergrundinformationen "die geschichte des insulins". [Acceso el 17 de noviembre de 2017]. Disponible en:

<http://www.sanofi.de/l/de/de/layout.jsp?cnt=EE51B94B-B64F-4A28-A3EE-62C1197572A2>.

Sanz del Fierro RS, Sevringhaus EL. Clinical use of new types of modified protamine zinc. *Ann Intern Med*. 1945; 22: 667-670.

Schlichtkrull J. *Insulin Crystals: chemical and biological studies on insulin crystals and insulin zinc suspensions*. Kobenhavns universitet; Copenhagen, Munksgaard. 1958.

Schlichtkrull J, Brange J, Christiansen AH, Hallund O, Heding L, Jorgensen KH. Clinical aspects of insulin-antigenicity. *Diabetes*. 1972; 21 (suppl 2): 649-656.

Schlichtkrull J, Munck O, Jersild M. Insulin Rapitard and insulin Actrapid. *Acta Med Scand*. 1965; 177: 103-113.

Schrank A. Die Behandlung des diabetes mellitus mit depotinsulin (Deposulin). *Dtsch med Wochenschr*. 1938; 64: 1677-1680.

Scott DA. Crystalline insulin. *Biochem J*. 1934; 28: 1592-1602.

Scott DA, Fisher AM. The prolongation of insulin action by protamine and zinc. *Proc. Am Soc Biol Chem*. 1936, 8: lxxxviii.

Segal AR, Brunner JE, Burch FT, Jackson JA. Use of concentrated insulin human regular (U-500) for patients with diabetes. *Am J Health Syst Pharm*. 2010; 67:1526-1535.

Sfetcu N. *Health & Drugs: Disease, Prescription & Medication*. Ed. Lulu.com. 2014.

Shamseer L, Moher D, Clarke M, Gherzi D, Liberati A, Petticrew M et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *Br Med J* 2015; 349: g7647 doi: 10.1136/bmj.g7647.

Sherrill JW. Clinical experiences and experiments with protamin-zinc insulin: the potential danger of hypoglycaemia. *Cal West Med.* 1938; 49: 13-20.

Slayton RE, Burrows RE, Marble A. Lente Insulin in the Treatment of Diabetes. *N Engl J Med.* 1955; 253: 722-725.

Sleigh S. Insulin preparations and analogues: structure and properties. *J Diabetes Nurs.* 1998; 2: 150-154.

Smith B. clinical studies with protamine insulin. *Cal West Med.* 1936; 45: 144-148.

Smith B, Grishaw WH. Protamin insulin: some clinical studies. Calcium and zinc preparations with insulin. *Cal West Med.* 1937; 46: 157-161.

Smith KS. Insulin and glucose in the treatment of heart disease with special reference to angina pectoris. *Br Med J.* 1933; 1: 693-696.

Sönksen PH. The evolution of insulin treatment. *Clin Endocrinol Metab.* 1977; 6: 481-497.

Sparkes AH, Cannon M, Church D, Fleeman L, Harvey A, Hoenig M et al. ISFM consensus guidelines on the practical management of diabetes mellitus in cats. *J Feline Med Surg.* 2015; 17: 235-250.

Spencer AG, Morgans ME. Lente insulin; four years' experience. *Lancet.* 1956; 271: 1013-1017.

Stephens JW, M.D.; Donaldson Jr RM, Marble A. Use of mixtures of NPH and unmodified insulins. *Arch Intern Med.* 1951; 88: 356-361.

Stowers JM. Insulin antibodies. *Postgrad Med J.* 1969; 45: 32-39.

Stowers JM, Nabarro JDN. Danish Novo Zinc Insulins. *Proc R Soc Med.* 1953; 46: 864-866.

Stowers JM, Nabarro JDN. Clinical experience of the insulin zinc suspensions. *Br Med J.* 1955, 1: 68-71.

Strakosch C. The discovery of insulin. In University Endocrine Department. Greenslopes Private Hospital: Brisbane, 2004; 20. [Acceso el 10 de octubre de 2017]. Disponible en:

http://www.historicgreenslopes.com/documents/Booklet_The%20Discovery%20of%20Insulin%2006.pdf

Stretton AOW. The First Sequence: Fred Sanger and Insulin. *Genetics*. 2002; 162: 527-532.

Stylianou C, Kelnar C. The introduction of successful treatment of diabetes mellitus with insulin. *J R Soc Med*. 2009; 102: 298-303.

Sun Y. The creation of synthetic crystalline bovine insulin. *Protein Cell*. 2015; 6: 781-783.

Suranyi L, Szalai F. Influence of lipoids on increasing potency of action of insulin. *Klin Woch*. 1930; 9: 2159.

Taeger H, Danish L. Klinische Erfahrungen mit Deposulin. *Klin Wochenschr*. 1937; 16: 1639-1642.

Tattersall RB. Bovine insulin. *Br Med J*. 1992; 305: 831.

Tattersall RB. The History of Diabetes Mellitus. En Holt RI, Cockram CS, Flyvbjerg A and Goldstein BJ eds. *Textbook of Diabetes, Fourth Edition*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. 2010. Pp: 3-23.

Telfer SV. The Administration of insulin by inunction. *Br Med J*. 1923, 1: 715.

Testa B, Meyer UA: Therapeutic Use of Insulin. En: Testa B and Meyer UA (Eds). *Advances in Drug Research*. Volume 27. 1996. Academic Press, London. Pp: 49-75.

Teuscher A. Treatment of insulin lipoatrophy with monocomponent insulin. *Diabetologia*. 1974; 10: 211-214.

The Insulin Commyttee of the University Of Toronto. Insulin: its action: its therapeutic value in diabetes, and its manufacture. *CMAJ*. 1923; 13: 480-486.

Thomas JA, Jones JE. Insulina, fármacos hipoglicemiantes orales y glucagón. En: Bevan JA (Ed): *Fundamentos de farmacología. Introducción y principios de acción de los fármacos*. 2ª Edición. México. Harper & Row Latinoamericana. 1978. Pp 352-357.

Thomas JH, Curtis cg. Metabolism of sulphated insulin in the rat. *Biochem J*. 1972; 130: 81.

Thomsen MK. The pursuit of oral insulin. 2017. [Acceso el 30 de diciembre de 2017]. Disponible en: <https://www.novonordisk.com/about-novo-nordisk/stories/the-pursuit-of-oral-insulin.html>

Thomson A. The clinical use of insulin. Br Med J. 1924; 1: 457-460.

Thompson A, Lathan P, Fleeman L. Update on insulin treatment for dogs and cats: insulin dosing pens and more. Veterinary Medicine: Research and Reports. 2015; 6: 129-142.

Tucker G. Insulin treatment of diabetes mellitus. MCV Quarterly. 1977; 13: 19-23.

Turnes AL. Introducción a la historia de la diabetes mellitus, desde la antigüedad hasta la era pre-insulínica. Montevideo, Uruguay. 2007. [Acceso el 20 de diciembre de 2017]. Disponible en:

https://www.smu.org.uy/dpmc/hmed/historia/articulos/diabetes_melli.pdf

U.S. Food and Drug Administration (a). FDA's Origin. Part I: The 1906 Food and Drugs Act and Its Enforcement. [Acceso el 27 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.fda.gov/AboutFDA/WhatWeDo/History/Origin/ucm054819.htm>.

U.S. Food and Drug Administration (b). FDA's Origin. Part II: 1938, Food, Drug, Cosmetic Act. [Acceso el 27 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.fda.gov/AboutFDA/WhatWeDo/History/Origin/ucm054826.htm>.

U.S. Food and Drug Administration (c). FDA approves a dedicated syringe to be used with Humulin R U-500 insulin. 2016. [Acceso el 18 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm510318.htm>

U.S. Food and Drug Administration (d). Freedom of information summary. Original new animal drug application. Nada 141-297. Prozinc. Protamine zinc recombinant human insulin. Injectable aqueous suspension. Cats. [Acceso el 20 de octubre de 2017]. Disponible en: www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/UCM198121.pdf

U.S. Food and Drug Administration. VETSULIN. Porcine insulin zinc suspension injectable 40 IU/ml. Dogs and Cats. Freedom of information summary. Supplemental new animal drug application. New Animal Drug Applications. 2008. Pp: 141-236.

Ulrich H. Clinical experiments with mixtures of standard and protamine zinc insulins. Ann Intern Med. 1941; 14: 1166-1179.

Umber F, Störring FK, Föllmer W. Erfolge mit einem neuartigen depotinsulin ohne protaminzusatz (Surfen-Insulin). Klin Wchnschr. 1938; 17: 443-446.

Umber F, Störring FK, Glet E. Klinische und ambulante erfahrungen mit verschiedenen insulindepotpräparaten an 250 diabetikern. *Klin Wochenschr.* 1938; 17: 190-196.

Unites States Phamacopeial Convention, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud y Ministerio de Sanidad y Consumo de España. Información de medicamentos USP DI OPS. OPS/OMS Ed. Washington. 1989. Pp: 1330-1336.

Urrútia G, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clin (Barc).* 2010; 135: 507-511.

Vademecum. Humulina regular solución inyectable en vial 100 UI/ml. 2017. [Acceso el 12 de diciembre de 2017]. Disponible en: https://www.vademecum.es/medicamento-humulina+regular_45394.

Valenzuela A. ¿Cuándo se inventó la jeringuilla? RTVe noticias. 2014. [Acceso el 2 de febrero de 2018]. Disponible en: <http://www.rtve.es/noticias/20140914/cuando-se-invento-jeringuilla/1011020.shtml>

Vargas L. Subcutaneous implantation of insulin in diabetes mellitus. *Lancet.* 1949; 253: 598-601.

Vartiainen I, Bastman L. The retardation of the effect of insulin by means of arginin. *Acta Med Scand.* 1939; 98: 318-327.

Velázquez L. Opoterapia pancreática. Insulina. En: *Terapéutica con sus fundamentos de farmacología experimental.* 6ª edición. Madrid. Editorial Científico Médica. 1953. Pp: 571-596.

Von Mering J, Minkowski O. Diabetes mellitus nach pankreasextirpation. *Arch F Exp Path U Pharm.* 1890; 26: 371-387.

Wafa WS, Khan MI. Use of U-500 regular insulin in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2006; 29: 2175-2176.

Wallerstein O. Insulin treatment in nondiabetic disturbances. *Cal West Med.* 1941; 54: 123-124.

Watkins PJ. ABC of Diabetes. Insulin treatment. *Br Med J.* 1982; 284: 1929-1932.

Wauchope GM. Globin insulin: a clinical study. *Br Med J.* 1948; 24: 191-194.

Wermer P, Monguio J. Antagonism of insulin and pituitrin. Clinical cases. *Klin Woch.* 1933; 12: 748.

White P, Marble A, Bogan IK, Smith RM. Enlargement of the liver in diabetic children. II. Effect of raw pancreas, betaine hydrochloride and protamine insulin. *Arch Intern Med.* 1938; 62: 751-764.

Whipple AO. Islet cell tumours of the pancreas. *CMAJ.* 1952; 66: 334-342.

White P. Modified protamine insulin (NPH-50). A clinical report. *JAMA.* 1949; 141: 312-314.

Whitehouse FW, Lowrie WL, Redfern E, Bryan JB. The lente insulin triad with emphasis on the use of "lente combinations". *Ann Intern Med.* 1961; 55: 894-902.

Winter LB. On the absorption of insulin from the stomach. *J Physiol.* 1923; 58: 18-21.

Wolff OH, Maddison TG. Insulin zinc suspension in childhood diabetes. *Br Med J.* 1955; 2: 413-415.

Woodyatt RT: The Clinical Use of Insulin. *J Metab Research.* 1922; 2: 793-801.

Wright AD, Walsh CH, Fitzgerald MG, Malins JM. Very pure porcine insulin in clinical practice. *Br Med J.* 1979; 1: 25-27.

Wright HN, Montag M. *Farmacología y terapéutica.* España. Editorial Interamericana. 1950.

Wright JR. From ugly fish to conquer death: J J R Macleod's fish insulin research, 1922-24. *Lancet.* 2002; 359: 1238-1242.

Xiao-Li L, Stimson C. *Diabetes. Ayuda de la medicina china.* Editorial Medica del Pueblo. Beijing, República Popular China. 2014.

Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* 1960; 39: 1157-1175.

Youngue EL. The use of insulin in dementia praecox. *J Natl Med Assoc.* 1939; 31: 51-54.

Zajac J, Shrestha A, Patel P, Poretsky L. The main events in the history of diabetes mellitus. In: Poretsky L. (eds) Principles of diabetes mellitus. 2010. Springer, Boston, MA. Pp: 3-16.

Zerrenner D, Peterson M, Crawford MA. The Evolution of Insulin Therapy. *Compend Contin Educ Vet.* 2007; 29: 522-536.

Zinman B, DeVries JH, Bode B, Russell-Jones D, Leiter LA, Moses A et al. Efficacy and safety of insulin degludec three times a week versus insulin glargine once a day in insulin-naive patients with type 2 diabetes: results of two phase 3, 26 week, randomised, open-label, treat-to-target, non-inferiority trials. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1: 123-131.

Ziskind E, Somerfeld-Ziskind E, Drury DR, Greeley PO. The mechanism of insulin therapy in schizophrenia. *Cal West Med.* 1938; 48: 310-311.

Zuelzer GL. Ueber versuche einer specifischen fermenttherapie des diabetes. *Zeitschrift für experimentelle pathologie und therapie.* 1908; 5: 307-318.

Zuger A. Rediscovering the first miracle drug. *The New York Times.* Published: October 5, 2010. D1.

10. ANEXO. Glosario

Amorfo y cristalino

Se denominan sólidos cristalinos aquellos en los que los átomos, iones o moléculas se repiten de forma ordenada y periódica en las tres direcciones del espacio. En los materiales amorfos no existe una distribución regular dentro del sólido.

Histonas

Proteínas que se encuentran en los cromosomas. Las histonas se unen al ADN, ayudando a dar su forma a los cromosomas y a controlar la actividad de los genes. Dentro del campo de las insulinas a la que se obtenía del timo de terneras se la denominó genéricamente como histona.

Insulina regular

Fue el apelativo que se le dio a la primera insulina obtenida por el equipo canadiense en 1922. La traducción más correcta de este término al español sería “normal” o “habitual”, para hacer referencia a que era la que se producía en el páncreas. Esta primera insulina era la forma **amorfa** de la misma. En 1926 el Dr. Abel consiguió la forma **cristalina**, que no se comercializó hasta 1936. Se siguió empleando el término “regular”, aunque ya de forma incorrecta pues no es la insulina que se encuentra en el páncreas (aunque realmente ninguna lo era, por las impurezas). También se la denominó insulina soluble. Más adelante, en 1965, Novo produjo la **Actrapid**, que se lograba por medio de una doble cristalización que tenía un pH neutro, a diferencia de la cristalina previa, que era ácida. Realmente el término que englobaría a estas tres insulinas de una forma correcta sería el de “insulina rápida”. No obstante, por desgracia, el que se emplea en demasiadas ocasiones es el de “insulina regular”, que sólo sería aplicable etimológicamente a la insulina amorfa, dando lugar a muchas confusiones.

Islotes pancreáticos

Descubiertos por 1869 por el alemán Paul Langerhans, del que toman su apellido. Contienen células de tipo A o alfa que secretan glucagón, células B o beta que secretan insulina, células D o delta que secretan somatostatina y células F que secretan polipéptido pancreático.

Marasmo diabético

Consistía en un severo distrés respiratorio junto a una alteración general de las funciones corporales, que se acompañaba de una caquexia extrema. Era la causa más frecuente de muerte de los diabéticos en la era pre-insulina.

Medida de la acción de la insulina

Inicialmente, la forma que tenían de valorar la acción de la insulina era por medio de las determinaciones seriadas de la glucemia. Eso es lo que exponen todos los autores en los resultados y lo reflejan en las gráficas de sus trabajos. No fue hasta 1960 cuando Yalow y Berson descubrieron el radioinmunoanálisis, técnica que permite determinar las concentraciones en la sangre de las insulinas exógenas después de su administración. Sin embargo, esta técnica no se generalizó hasta muchos años después, dado su alto costo inicial. Por ello, en los artículos publicados en los primeros 50 años de la insulina, no existen referencias a dichas concentraciones. Ahora bien, si se piensa detenidamente, el sistema empleado inicialmente tiene mucha más importancia en las implicaciones clínicas de un determinado tipo de insulina o análogo, pues valora tanto su efecto como el de las reacciones contrainsulares que produce en el cuerpo.

Pioneros de la diabetes

La diabetes fue una enfermedad a la que, durante muchos años, no se le dio mayor importancia. Su prevalencia la dejaba en un segundo o, incluso, en un tercer plano, muy por detrás de las enfermedades infecciosas, la desnutrición y los traumatismos, las causas de mortalidad habituales del ser humano durante siglos. Por ese motivo, en muchos casos, apenas se conservan unos pocos datos sobre aquellos que aportaron los distintos ladrillos que han venido a configurar el edificio actual del conocimiento de la enfermedad. Ese es el motivo por el que, en este trabajo, no se pueden citar los años del nacimiento y de la muerte de algunos investigadores, teniéndolos que sustituir por interrogantes. Incluso, en ocasiones, se desconoce hasta el nombre de pila o su nacionalidad. No obstante, esto no es un motivo para obviar sus aportaciones, realizadas tras un concienzudo trabajo llevado a cabo, en muchas ocasiones, con apenas medios.

PRISMA y PROSPERO

PRISMA es el acrónimo de Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (Elementos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis). Por lo tanto es una metodología, perfectamente sistematizada, para la realización de los mismos. A su vez, PROSPERO es el International Prospective Register of Systematic Reviews (Registro internacional prospectivo de revisiones sistemáticas), o sea, un registro. Depende del National Health Service británico y en él se registran las revisiones sistemáticas que posteriormente se quieren publicar en las revistas internacionales de impacto. Para dicho registro se ha de emplear la metodología propuesta por PRISMA.

Protamina

Otro grupo de sustancias básicas del núcleo celular. La que se empleó inicialmente para su unión a la insulina es una monoprotamina originaria del salmón. El nombre correcto sería salmiridina. Existen otras muchas (esturina, clupeína, salmina...). No obstante, la empleada con la insulina es la procedente del salmón y se la denomina genéricamente protamina.

Síndrome de Mauriac

Una de las consecuencias del tratamiento irregular con las insulinas de acción corta. Ocurría en niños y adolescentes con un mal control glucémico. Se caracterizaba por una baja estatura, una hepatomegalia, a menudo masiva, un dolor abdominal que, a veces, se acompañada de una esplenomegalia y un vientre protuberante. Este síndrome se volvió muy raro después de la introducción de las insulinas de acción más prolongada. Años después aún se observaba a veces en aquellos con una ingesta alta de carbohidratos y una irregularidad en la administración de su insulina.

Solución y suspensión

La solución es una mezcla homogénea de dos o más sustancias. La sustancia disuelta se denomina soluto y la sustancia donde se disuelve se denomina disolvente. Por su parte la suspensión es una mezcla heterogénea formada por un sólido en polvo o por pequeñas partículas no solubles (fase dispersa) que se dispersan en un medio líquido (fase dispersante).

Unidad de insulina

Inicialmente en 1923 una unidad era la dosis requerida para reducir la glucemia de un conejo normal de 2 kilos de peso, tras veinticuatro horas de ayuno, desde la cifra normal (120 mg por 100 ml) hasta 45 mg en cuatro horas. En 1925 se consideró que había 8 unidades por cada miligramo de sustancia (1 U = 0,125 mg). En 1936, con la aparición de la insulina cristalina, la cantidad pasó a ser 22 unidades internacionales de insulina por mg (1 U = 0,0455 mg). En 1952 se conformó el tercer estándar. A partir de entonces debía de haber 24,5 unidades por mg (1 U = 0,04082 mg).