

ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

Insulina como fármaco

Dr. Nicolás Velasco Fuentes
 Profesor Adjunto de Medicina
 Departamento de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición

Poco tiempo después del descubrimiento de la insulina por Banting y Best en 1921, las casas farmacéuticas obtuvieron licencia para producirla. Las primeras lo hicieron en 1922 (Connaught Laboratories de Canadá y Eli Lilly de los Estados Unidos). Sólo entre 1923 y 1924 se agregaron nueve productores más. Lo anterior demuestra el enorme impacto que provocó disponer de esta hormona para ser utilizada como medicamento en pacientes que de otra manera hubiesen fallecido.

PRODUCCION DE INSULINAS

Las primeras insulinas para uso en humanos, que por otra parte constituían nuestro único arsenal terapéutico hasta hace pocos años, se extraían de páncreas de animales, especialmente bovinos y porcinos. Las diferencias entre estas insulinas y la secuencia aminoacídica de la hormona humana se presentan en la Tabla 1. En ella se puede observar que la insulina porcina tiene mayor semejanza a la humana, lo que explica la mayor antigenicidad intrínseca de los preparados de insulina bovina. Sin embargo, la antigenicidad de las insulinas animales no se debía solamente a las diferencias de la secuencia aminoacídica, ya que los métodos de purificación en uso dejaban otros componentes, además de la hormona, con alta capacidad antigénica, como contaminantes proteicos pancreáticos, polipéptido pancreático y glucagón, además de proinsulina y formas alteradas de insulina. A fin de evitar dicha contaminación, se diseñaron dos métodos de purificación, el primero

por filtración en gel (insulinas de un solo *peak* en la cromatografía), que eliminaba muchas pero no todas las impurezas. La segunda utiliza filtración en gel y cromatografía de intercambio iónico, entregando insulinas de una alta pureza llamadas monocomponentes o raramente inmunogénicas. Algunas casas farmacéuticas han asociado el uso de cromatografía líquida de alta presión, a fin de extremar el grado de pureza de la hormona producida.

Las insulinas humanas, que veremos más adelante, también son tratadas de estas últimas maneras, a fin de reducir al mínimo su antigenicidad debida a impurezas. Desde hace algunos años se han introducido al mercado dichas insulinas humanas, las que por otra parte constituirán nuestra única fuente terapéutica en un futuro no muy lejano. Como es obvio, estas hormonas no provienen de la extracción desde páncreas humanos, sino que son producto de la bioquímica e ingeniería genéticas.

OBTENCION DE INSULINAS HUMANAS

Conversión enzimática

También llamada semisíntesis, ya que consiste en transformar una insulina porcina en humana, usando métodos químicos. Como se dijo

TABLA 1

DIFERENCIAS DE SECUENCIA AMINOACIDA ENTRE INSULINA HUMANA, PORCINA Y BOVINA

	CADENA A		CADENA B
	8*	10*	30*
Humana	Treonina	Isoleucina	Treonina
Porcina	Treonina	Isoleucina	Alanina
Bovina	Alanina	Valina	Alanina

* Indica el número del aminoácido dentro de la secuencia de la respectiva cadena

previamente, ambas insulinas difieren sólo en el aminoácido 30 de la cadena B (alanina en la porcina y treonina en la humana). Para efectuar la conversión enzimática se realiza una transpeptidación, reemplazando el residuo alanina por un éster de treonina. Esto produce insulina humana con una pureza del 97%.

Biosíntesis

La biosíntesis de la insulina se ha efectuado utilizando ingeniería genética y distintos organismos como sustrato de síntesis. En general, el proceso tiene etapas básicas definidas (Figura 1). Lo primero, luego de elegido el microorganismo a utilizar, es extraer su DNA, que ha adoptado forma de anillo circular (plásmido); luego se abre dicho anillo en un punto determinado mediante enzimas (restricción enzimática) y a continuación se inyecta el DNA extraño, en este caso el del precursor de la insulina humana. Esta recombinación se completa cerrando el plásmido. Posteriormente, el plásmido recombinado se inyecta en el microorganismo huésped, el que comienza a sintetizar la insulina o sus componentes.

El primer modelo de biosíntesis insulínica que derivó en producción para uso clínico utilizó *Escherichia coli*. En las etapas iniciales de este

procedimiento se obtenían por separado las cadenas A y B de la insulina, las que luego se combinaban para obtener la hormona completa. Actualmente se sintetiza toda la insulina, la que se obtiene en primera etapa como proinsulina. Sin embargo, este método tiene algunos problemas prácticos. En primer lugar, para obtener la hormona hay que destruir la bacteria que tiene el producto en su interior, lo que aumenta sus riesgos de contaminación. Por otra parte, para obtener insulina, hay que tratar a la proinsulina con bromuro de cianógeno, que es tóxico, asociado a un proceso enzimático. Los problemas derivados del modelo de *Escherichia coli* han sido solucionados en gran parte usando levaduras. Este microorganismo ofrece varias ventajas; en primer término, no es patógeno ni tóxico y ha sido utilizado por siglos en la alimentación humana. Además, representa un mayor desarrollo celular que el que tiene una bacteria, siendo su contenido y funciones celulares más similares a los de células humanas. Más importante que lo anterior, estas células son capaces de secretar la molécula de insulina casi completa, con una estructura tridimensional perfecta. Por estas razones, actualmente se trabaja mayoritariamente con levaduras, introduciéndoles un plásmido que contiene un gen codificador sintético de insulina que genera una miniproinsulina (ya que el residuo que queda al hidrolizar para obtener insulina es más pequeño que lo habitual), que asegura el buen plegamiento espacial de la hormona obtenida.

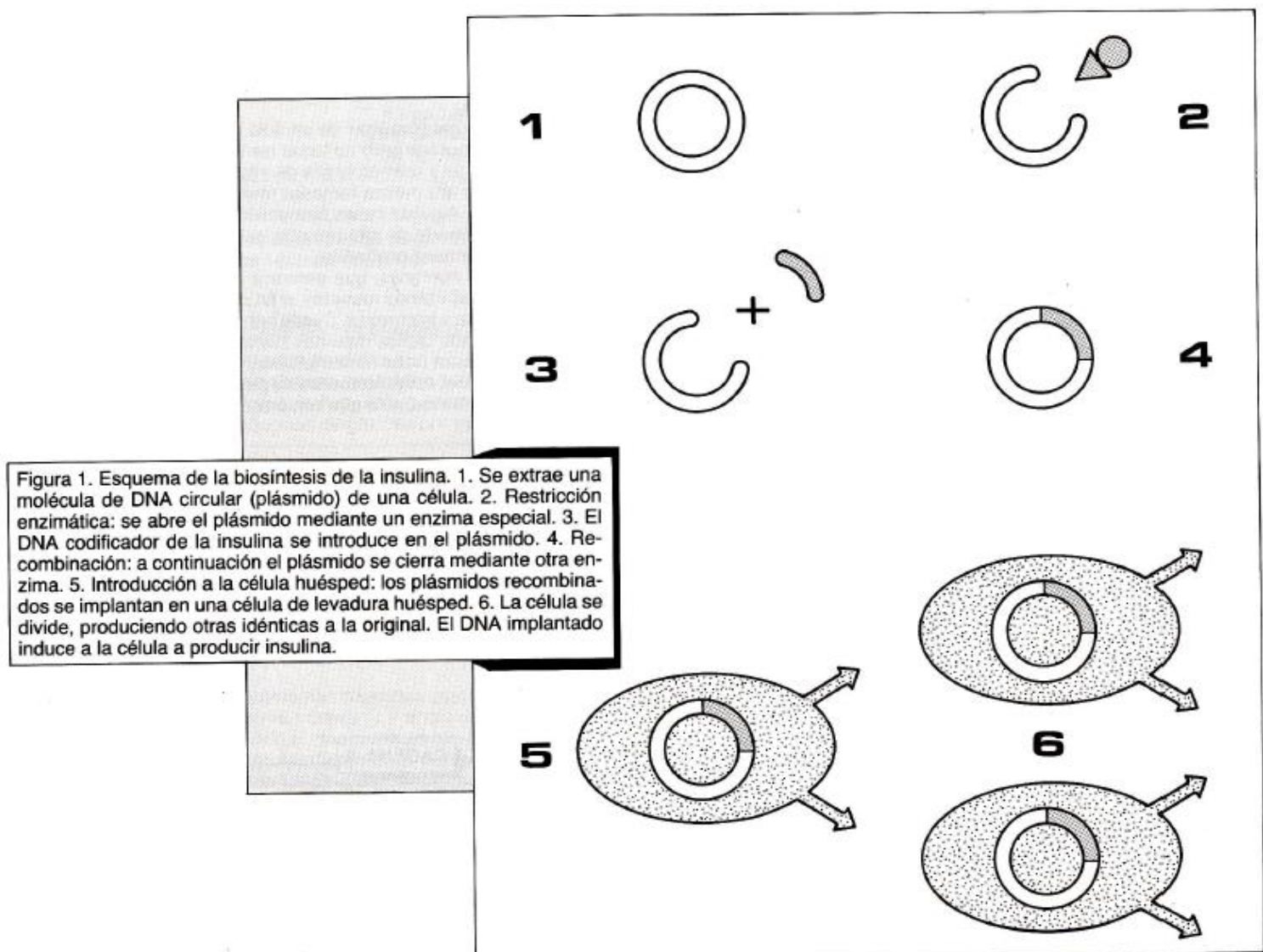


Figura 1. Esquema de la biosíntesis de la insulina. 1. Se extrae una molécula de DNA circular (plásmido) de una célula. 2. Restricción enzimática: se abre el plásmido mediante un enzima especial. 3. El DNA codificador de la insulina se introduce en el plásmido. 4. Recombinación: a continuación el plásmido se cierra mediante otra enzima. 5. Introducción a la célula huésped: los plásmidos recombinados se implantan en una célula de levadura huésped. 6. La célula se divide, produciendo otras idénticas a la original. El DNA implantado induce a la célula a producir insulina.

Este gen sintético contiene además un codificador para una proteína guía, que facilita la secreción de la hormona al exterior de la célula.

Cualquiera sea el método de biosíntesis, una vez obtenida la insulina, el producto se purifica en varias etapas (filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico y cromatografía líquida de alta presión).

SIGNIFICADO CLINICO DE LOS ANTICUERPOS ANTIINSULINA

Las insulinas impuras generan anticuerpos antiinsulina. Las purificadas también los inducen, siendo mayor la cantidad inducida para las bovinas, luego las porcinas y por último las humanas (cantidades muy pequeñas en este último caso).

Resulta obvio que es preferible usar un compuesto poco antigénico. Sin embargo, en nuestro medio aún contamos con insulinas porcinas de baja pureza, que generan más anticuerpos que las humanas, siendo estas últimas más caras.

Los anticuerpos antiinsulina tienen clara implicancia en el desarrollo de lipodistrofia asociada a la inyección, en la alergia insulínica y en algunos raros casos de resistencia inmunológica a la acción de la hormona. Por otra parte, se han descrito algunos casos de hipoglicemia asociada a la liberación brusca de insulina desde la unión antígeno-anticuerpo.

No existe evidencia de que los anticuerpos así generados aceleren el daño pancreático o que jueguen algún rol en la etiopatogenia de las

complicaciones crónicas. Debido a lo anterior, si no se cuenta con medios económicos o disposición local de insulinas humanas, es posible tratar a diabéticos con los preparados porcinos menos purificados. Los riesgos a que se verán sometidos estos pacientes son la lipodistrofia (que puede minimizarse con la rotación de los puntos de inyección) y la alergia. No es verdadero que los requerimientos de insulina sean menores al usar insulinas humanas.

TIPOS DE PREPARADOS FARMACEUTICOS

La potencia de las insulinas se mide en unidades, sin que exista una clara relación entre la masa de la hormona y dicha potencia. La calificación de las unidades es dependiente de ensayos biológicos, en los cuales se evalúa en animales la capacidad hipoglicémica del preparado hormonal.

En nuestro medio se dispone de dos tipos de preparados farmacéuticos: de acción rápida y lenta. En el primer caso se trata de la hormona cristalizada, sin agentes retardantes de absorción. El aspecto de estos preparados es transparente, por lo que estas insulinas son también llamadas cristalinas. Los preparados de acción lenta son de aspecto lechoso y ven retardada su absorción desde el tejido subcutáneo por uno de dos mecanismos: agregado de una proteína extraña (protamina en insulinas NPH) o modificación de pH y agregado de un exceso de zinc (insulinas "lentas").

Los tiempos de acción de cada tipo de insulina se presentan en la Tabla 2 y los preparados disponibles en Chile en la Tabla 3.

TABLA 2
TIEMPOS DE ACCION PARA PREPARADOS INSULINICOS

	Inicio acción (h)	Acción máxima (h)	Duración total efecto (h)
VIA ENDOVENOSA			
Insulina cristalina	Inmediata	-	1
VIA SUBCUTANEA			
Insulina cristalina	0,5 - 1	2 - 4	5 - 8
Insulinas lentas	2 - 4	8 - 12	20 - 24

TABLA 3
INSULINAS DISPONIBLES EN CHILE
(Todas con concentración de 100 UI/ml)

NOMBRE	TIPO	ORIGEN
Act rapid	Cristalina	Porcino
Lenta	Lenta	Bovino-porcino
NPH	Lenta	Porcino
Act rapid HM (Ge)	Cristalina	Humana
Monotard HM (Ge)	Lenta	Humana
Insulatard HM (Ge)	Lenta	Humana

TECNICA DE ADMINISTRACION

La insulina se puede inyectar por vía endovenosa, intramuscular y subcutánea. No tenemos experiencia con el uso intramuscular.

Para la administración de la hormona se cuenta con jeringas ad-hoc, graduadas en unidades (0-50 y 0-100). Estas jeringas pueden tener o no aguja incorporada, la que generalmente es de calibre 21 ó 22 G.

En la vía subcutánea debe tenerse especial precaución, al usar insulinas no humanas, en rotar los sitios de inyección, a fin de evitar la lipodistrofia. Se prefieren áreas no movilizables durante el ejercicio, como la pared abdominal.

La insulina debe almacenarse en un lugar fresco, no necesariamente refrigerado. No existen inconvenientes para que sea transportada por el paciente, ya sea en viajes o durante la actividad laboral.

Cuando el paciente deba usar insulinas rápidas y lentas simultáneamente, se puede efectuar la mezcla en la misma jeringa, para inyectar inmediatamente. Si la inyección no se efectúa de inmediato, la mezcla de insulina cristalina y lenta no es segura, ya que puede haber interferencias en la farmacodinamia de ambas. Por el contrario, la mezcla de insulinas cristalina y NPH es estable en el tiempo. De cualquier manera, al hacer mezclas debe tenerse especial precaución en no contaminar el frasco de insulina de un tipo con el que se está mezclando.

Además de las jeringas, se cuenta actualmente con dispositivos de inyección ("lápices") que utilizan reservorios especiales (*cartridge* en la denominación anglosajona), que permiten la fácil administración y transporte de la insulina. Se encuentran disponibles en modelos adecuados para usar insulina cristalina o lenta (Novopen I y II[®], respectivamente). El distribuidor los entrega gratuitamente a los pacientes.

COMPLICACIONES DE LA INSULINOTERAPIA

Hipoglicemia

Es la complicación más frecuente asociada al uso de insulina, especialmente con programas de control estricto, los cuales deben ser instaurados para obtener los objetivos de control, definidos en otro capítulo de esta revista. Las causas más frecuentes de dicha hipoglicemia son errores en la inyección (sobredosis), omisión o retraso de comidas, ejercicio físico inusual, insuficiencia renal y alteraciones gastrointestinales (vómitos o diarrea). En la mayor parte de los casos, las hipo-

glicemias son sólo de nivel neurovegetativo y de rápida solución (alimentación adecuada, readecuación de dosis insulínica). La existencia de hipoglicemias neuroglucopénicas o con compromiso de conciencia es una emergencia médica. Requiere de administración de glucosa (EV o comida oral). Si el paciente sufre este tipo de episodios en su domicilio y está en coma, la administración de glucagón 1 mg IM puede ser salvadora. Todo diabético que usa hipoglicemiantes debe estar instruido acerca de las medidas inmediatas a aplicar frente a la hipoglicemia; la demora en el tratamiento puede provocar daño cerebral o la muerte del paciente.

Alergia

Es poco frecuente y sólo se observa con insulinas no humanas (5% de los casos). Suele producir efectos sólo a nivel local (enrojecimiento, sensación pruriginosa). Pueden existir reacciones anafilactoides, pero éstas son extraordinariamente infrecuentes. La alergia a insulinas humanas es prácticamente inexistente.

Edema

Al iniciar insulina, se puede observar edemas leves o moderados, que ceden espontáneamente a pesar de continuar usando la hormona. La causa es un incremento transitorio de la retención de sodio y agua.

Lipodistrofia

Se puede observar atrofia o hipertrofia en sitios de inyección subcutánea de insulina. Al usar insulinas no humanas, su frecuencia disminuye al rotar sitios de inyección. No se observa lipodistrofia si se utilizan insulinas humanas.

Resistencia a la insulina

Se define como tal el incremento de los requerimientos de insulina por sobre las 200 UI/día en ausencia de cetoacidosis, infecciones o endocrinopatías. Tiene dos orígenes: inmune (anticuerpos antiinsulínicos) y no inmune (reducción del número o afinidad de los receptores para insulina). Entre estos últimos se cuentan la obesidad severa, la diabetes lipoatrófica y la acantosis nigricans tipo A.

La resistencia inmune es extraordinariamente rara (menos de 1 cada 1.000 diabéticos que usan insulina). Puede solucionarse cambiando el tipo de insulina en uso (no humana a humana). Ocasionalmente debe recurrirse al uso de corticoides.

REFERENCIAS ESCOGIDAS

1. Pickup JC, Williams G, edit. Textbook of diabetes. Blackwell Scientific Publications, London, 1991.
2. Peacock I, Tattersall RB, Taylor A, et al. Effects of new insulins on insulin and C-peptide antibodies, insulin dose and diabetic control. Lancet 1983; 1:149-152.
3. Editorial: Subcutaneous injections and absorption of insulin. Lancet, 1980; 1:1005-1006.
4. Grammer LC, Chen PY, Patterson R. Evaluation and management of insulin allergy. J Allergy Clin Immunol, 1983; 71:250-254.
5. Velasco N, Díaz Valdés M, Arteaga A et al. Influencia de anticuerpos antiinsulina y secreción remanente de péptido C en el control metabólico de diabetes tipo I. Rev Med Chile, 1990; 118:3-9.