

Kľukatá cesta objavu inzulínu

Tortuous path of insulin discovery

Oliver Rácz, Peter Dombrovský
Ústav patologickej fyziológie LF UPJŠ v Košiciach

✉ doc. MUDr. Oliver Rácz, CSc. | olliracz@gmail.com | www.patfyz.medic.upjs.sk
Doručené do redakcie | Received 30. 09. 2021

Z histórie diabetu

Diabetes bol známy už v staroveku, ale názory na jeho príčinu boli čisto špekulatívne. Bolo to aj z toho dôvodu, že pred zavedením metód na meranie glukózy bola jeho diagnostika skoro nemožná. Diabetes mellitus a diabetes insipidus boli samostatne hodnotené až v 17. storočí a že sladkosť moču u diabetikov spôsobuje hroznový cukor, sa zistilo až na začiatku 19. storočia. Zaujímavá predhistória výskumu cukrovky je detailne opísaná [1-7] a stručne ju zhrnuje tab.

Objavy v diabetológii v 19. storočí

Cielené hľadanie látky v podžalúdočnej žľaze, ktorá by mohla liečiť ľudí s diabetes mellitus, sa začalo v roku 1889, keď vtedy už dobre známy Oskar Minkowski a jeho kolega Josef von Mering mali v úmysle študovať metabolizmus tukov u psov po odstránení pankreasu. Po úspešných operáciách zriadenec zvieratníka oznámil pánom profesorom nečakanú udalosť: psi po operácii veľa močili a zašpinili svoje kliečky. (Pozn. autora: Ide o anekdotu. V literatúre sú uvedené aj iné scenáre, ale ani jeden z nich nie je presne dokumentovaný [4]). Mering a Minkowski okamžite vyšetrili moč psov na cukor a bolo jasné, že zvieratá majú cukrovku a v pankrease sa tvorí niečo, čo zasahuje do metabolizmu cukrov. Podozrenie padlo na ostrovčeky bez vývodov opísané v dizertácii Paula Langerhansa v roku 1869 [8,9].

Cesta od myšlienky k izolácii účinnej látky na liečenie cukrovky nebola jednoduchá a mnohé pokusy sa končili neúspechom (na prelome storočí na meranie jedinej glykémie bolo potrebné odobrať 25–50 ml krvi a prvé mikrometódy (meranie z 2 mililitrov krvi) boli zavedené len na začiatku 20. storočia).

Po publikovaní objavu Meringa a Minkowského bolo mnohým výskumníkom jasné, že látku, ktorá by mohla liečiť cukrovku, treba hľadať v ostrovčekoch podžalúdočnej žľazy. Údajne aj Minkowski a Mering skúšali podávať extrakty sušeného pankreasu diabetickým psom, ale bez úspechu. Francúzsky profesor Eugen Gley (1857–1930) už v roku 1905 zverejnil článok o hypo-

Tab. | Míľniky diabetológie pred objavom inzulínu

STAROVEK	
Ebersov a Hearsov papyrus (1550–1350 pred Kristom)	opis vzácnej choroby
Galen (131–201)	cukrovka je choroba obličiek
Arateus z Kapadócie a Demetrius z Apamea (2.–3. storočie)	rozšírenie poznatkov o chorobe a jej pomenovanie ako „diabetes“
lekári v starej Indii, Číne a Iráne (≈ 2.–5. storočie)	„chorý močí ako bujarý slon“ a okolo jeho moču sa zhromažďujú mravce
STREDOVEK	
Avicenna (968–1037)	opis diabetickej gangrény a impotencie
Paracelsus (1493–1541)	cukrovka je celkové ochorenie v moči chorých je soľ
17. a 18. STOROČIE	
Thomas Willis (1621–1675)	moč diabetikov je sladký, liečba hladovaním
Johann Conrad Brunner (1653–1723)	odstránenie pankreasu u psov, prechodná polyúria
Thomas Sydenham (1624–1689)	špekulácie o príčine
John Rollo (?–1809)	liečba diétou bohatou na mäso
Thomas Cawley (2. polovica 18. storočia)	diabetes po poškodení pankreasu diabetes „mellitus“ zápach pokazených jabĺk v dychu
Matthew Dobson (1735–1784)	v moči diabetikov je cukor
19. STOROČIE	
Hermann von Fehling (1812–1885)	prvé semikvantitatívne skúšky na cukor v moči
Stanley Rossiter Benedict (1884–1936)	
Vilém Ignác Petters (1824–1899)	aceton v moči diabetikov
Adolf Kussmaul (1822–1902)	hyperpnoe pri diabetickej ketoacidóze
	zakladateľ experimentálnej medicíny
	objav glykogénu
Claude Bernard (1813–1878)	vyvolanie glykozúrie dráždením jadier n. vagus (piqúre diabetes). vypracovanie metódy podviazania pankreatického vývodu
	histológia pankreasu
Paul Langerhans (1847–1888)	opis ostrovčekov bez vývodu

glykemizujúcom účinku výťažku z podžalúdkovej žľazy [10], no účinnú látku neidentifikoval. Možno, že ju veľmi ani nehládal, lebo bol zaujatý výskumom štítnej žľazy a skúmaním hemokoagulácie. Toto potvrdzuje i skutočnosť, že krátko po zverejnení článku Bantinga et al nechal na francúzskej akadémii otvoriť obálku, v ktorej boli jeho nezverejnené výsledky. O hodne ďalej sa dostal v Nemecku George Ludwig Zülzer (1870–1949). Ním vyvinutý extrakt z podžalúdkovej žľazy firma Hoffmann-La Roche aj uviedla pod názvom Acomatol do užívania [11], žiaľ prípravok mal vážne vedľajšie účinky, a preto sa nerozšíril. Možno, že nebol dostatočne čistý a vyvolával anafylaktický šok alebo obsahoval priveľa inzulínu, čím dochádzalo k hypoglykemickej kóme. V roku 1911 Ernest Lyman Scott (1877–1966) v USA úspešne izoloval z pankreasu psov extrakt na zníženie glykémie, ale jeho nadriadený nepovažoval výsledky za presvedčivé a nedovolil mu pokračovať vo výskume [12]. Ďalším bol americký lekár Israel Kleiner (1885–1966), ktorý v roku 1919 demonštroval hypoglykemicke účinky pankreatického extraktu na zvieratách [13].

Konečne inzulín

Mladý kanadský lekár Frederick Grant Banting po prvej svetovej vojne začal pôsobiť ako všeobecný lekár. Keďže nemal dost klientov, prijal ponuku prednášať študentom medicíny na lekárskej fakulte. Nápad, ako izolovať látku na liečbu cukrovky, dostal pri príprave prednášky koncom októbra 1920:

„I was disturbed and could not sleep. I thought about the lecture and the article and I thought about my miseries and how I would like to get out of debt ... about two in the morning after the lecture and the article had been chasing each other thro' my mind ... the idea occurred to me, that by the experimental ligation of the duct and the subsequent degeneration of the pancreas, that one might obtain the internal secretion free of the external secretion... I got up and wrote down the idea...“

Frederick Grant Banting (1891–1940)

Frederick Grant Banting sa narodil 14. novembra 1891 ako posledný z 5 detí farmára v provincii Ontario v Kanade. Medicínu začal študovať na univerzite v Toronte v roku 1912. Predtým, na pranie rodičov, rok študoval metodistickú teológiu, ktorá ho však nelákala. Univerzitu ukončil počas vojenského výcviku. Do konca svetovej vojny pôsobil ako chirurg na fronte vo Francúzku, kde bol v lete 1918 ranený a bol vyznamenaný vojnovým krížom. Koncom roka 1918 sa vrátil do Toronta a chcel sa venovať ortopédii. V polovici roka 1920 si otvoril ambulanciu v Londone (provincia Ontario, Kanada). Keďže pacienti neprichádzali, dlhé hodiny trávil štúdiom. Vedený vedeckou ctižia-

dostou a donútený existenčnými potrebami prijal miesto inštruktora anatómie, fyziológie a chirurgie na lekárskej fakulte v tom istom meste. Dňa 20. októbra 1920 počas prípravy prednášky pre študentov objavil v knižnici v časopise Surgery, Gynecology and Obstetrics článok Mosesa Barrona o vzťahu medzi Langerhansovými ostrovčekmi a diabetom v prípadoch pankreatickej litiázy. Zaujali ho odseky o starších pokusoch Arnozana a Vaillarda, ktorí popísali, že po podviazaní ductus pancreaticus atrofuje žľazová časť. Oslovila ho aj správa Soboleva z roku 1901, že po podviazaní pankreatického vývodu u psa dochádza k atrofiu a skleróze žľazy, pričom Langerhansove ostrovčeky zostávajú nedotknuté a nedochádza ku glykozúrii. Banting začal uvažovať: predchádzajúce pokusy Zülzera z roku 1908 a Scotta z roku 1912 zlyhali, pretože pankreatické enzýmy zničili hypotetický hormón. Keby atrofiou žľazovej časti boli odstránené enzýmy, extrakcia by sa musela vydať. Po niekoľkých hodinách premýšľania si napísal na lístok: podviaž vývod pankreasu u psa, čakaj 6–8 týždňov, vyber pankreas a extrahuj. Svoj nápad predostrel neurofyziológovi prof. Millerovi, s ktorým už predtým spolupracoval. Ten sa však v tejto otázke nepokladal za kompetentného, preto mu navrhol zavítať k profesorovi Macleodovi, profesorovi fyziológie na univerzite v Toronte. Macleod, uznávaná autorita venujúca sa výskumu metabolizmu, bol pri prvej návšteve Bantinga skeptický a odmietavý. Mladý muž, ktorý ešte nemal za sebou žiadnu vedeckú činnosť, iba nápad, ktorý vzišiel po prečítaní jednej publikácie, mu vôbec neimponoval, a snažil sa ho čím skôr zbaviť. Banting však ukázal svoju húževnatú povahu a nedal sa odradiť prvým neúspechom. Vyžiadal si druhú návštevu u Macleoda. Po dlhšom rozhovore sa mu podarilo aspoň trochu získať profesora, ktorý mu dovolil na 2 mesiace pracovať v laboratóriu, poskytol mu 10 psov a 1 asistenta. Ním bol študent medicíny Charles Best. V septembri 1921 Banting a Best predložili prof. Macleodovi dovtedajšie výsledky. Na jeseň začal s Bantingom a Bestom spolupracovať biochemik James Bertram Collip, ktorého Macleod poveril prípravou vyčisteného inzulínu. Prvú prednášku o inzulíne pre lekársku verejnosť predniesol Macleod v New Havenu a neskôr v Chicagu. Vzbudil pritom dojem, že on je iniciátorom celej práce. Preto naň Banting zanevrel a nikdy sa spolu nezmierili. Keď v roku 1923 bol Banting za svoj objav spolu s Macleodom odmenený Nobelovou cenou, chcel ju odmietnuť, pretože na dekrét o udelení ceny bol menovaný na druhom mieste. Na naliehanie svojich priateľov tak neurobil. O svoju polovicu sa rozdelil s Bestom, Macleod s Collipom. Banting dostal od kanadskej vlády doživotnú rentu a bol mu postavený výskumný ústav (1930) a vytvorený fond na podporu ve-

deckého výskumu nesúci jeho meno. V ďalšej činnosti Banting upustil od problematiky inzulínu i metabolizmu. Neúspešne sa venoval i otázke etiológie rakoviny. V roku 1935 sa zúčastnil medzinárodného fyziologického kongresu v Leningrade, kde mal možnosť stretnúť sa s I. P. Pavlovom. Na začiatku druhej svetovej vojny bol poverený riadením vedeckého výskumu v leteckej fyziológii. V tejto funkcii musel podnikáť cesty lietadlom do Anglicka. Pri jednej z nich tragicky zahynul pri katastrofe lietadla na Novom Foundlande v roku 1940.

(Skrátený preklad časti kapitoly o histórii diabetu v monografii: Bedřich Bejda, Jiří Syllaba: Diabetes mellitus. Pokroky v pathologické fyziológii, diagnostice a léčbě úplavice cukrové. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha 1956.)

Ten článok bol o tom, že u ženy s obštrukciou spoločného žľčového a pankreatického vývodu došlo k odumretiu exokrinnej časti pankreasu. Profesor John James Rickard Macleod (1877–1935), ktorý na rozdiel od mladého chirurga mal na tú dobu detailné vedomosti o metabolizme cukrov, považoval nápad mladého chirurga izolovať antidiabetickú látku po degenerácii exokrinnej časti pankreasu za dobrý, ale mal pochybnosti o schopnostiach Bantinga realizovať tento projekt:

„Dr. Banting had only a superficial textbook knowledge of ... what had been done on the effects of pancreatic extracts on diabetes...” Pociťoval to aj Banting: „Macleod sat back ... closed his eyes...began to talk. He thought this might be the means of getting rid of the external secretion ... never tried before... it was worth trying ... even negative results would be of great physiological value.”

Napriek tejto nepriaznivej atmosfére rozhovoru bol Macleod veľkorysý a umožnil Bantingovi pracovať v laboratóriu a poskytol mu aj zvieratá na pokusy. Slabé vedomosti Bantinga z biochémie vyriešil zapojením študenta Charlesa H. Besta (1899–1978, neskôr profesor fyziológie na tej istej univerzite ako Macleod), ktorý vedel merať koncentráciu cukru z malého množstva krvi [14].

Banting a Best začali pracovať 17. mája 1921. Niekoľkým psom podviazali pankreatický vývod, aby dosiahli degeneráciu exokrinnej časti podžalúdkovej žľazy, a z tkaniva, čo ostalo, extrahovali predpokladanú účinnú látku. Prvé pokusy boli neúspešné, ale v auguste už mali niekoľko mililitrov nie príliš čistého výťažku z pankreasu, ktorý po injekčnom podaní rýchlo znižoval krvný cukor druhej skupiny psov, ktoré mali diabetes po exstirpácii celého pankreasu. Účinná látka dostala najprv meno isletin, potom ju premenovali na inzulín.

Psí inzulín nebol použiteľný pre liečbu ľudí s diabetes mellitus a dvojica neskôr začala extrahovať inzulín z hovädzích pankreasov. Pri čistení a príprave prepa-

rátov im výrazne pomáhal biochemik James Bertram Collip (1892–1965). Prvým úspešne liečeným človekom bol 14-ročný Leonard Thompson. Vychudnutý na kosť a kožu bol bez účinnej liečby odsúdený na smrť v diabetickej kóme. Prvú dávku inzulínu dostal 11. 1. 1922 a po prekonaní počiatkových problémov, ktoré vyplývali z nedostatočnej čistoty preparátu, sa jeho stav rýchlo zlepšoval. 23. januára 1922 jeho glykémia klesla z extrémne vysokých hodnôt na skoro normálnu úroveň. Thompson zomrel o 13 rokov neskôr na následky infekcie po ťažkej motocyklovej havárii.

Prednáška o objave sa na ústave lekárskej fakulty konala 14. novembra 1921 v deň Bantingových narodenín. Publikácie o objave lieku na liečenie diabetu vyšli v roku 1922 a 1923 [15–17] a v tom istom roku firma Eli Lilly už produkovala relatívne čistý inzulín extrahovaný z hovädzích pankreasov. Nobelova cena za objav bola udelená Macleodovi a Bantingovi v roku 1923. S tým sa začali aj problémy okolo objavu. Banting sa rozdelil o svoju časť s Bestom, Macleod s Collipom. Až do nedávnej minulosti prevládal názor (šírený pravdepodobne Bantingom), že Macleod nemal žiadne zásluhy na objave inzulínu. Novšie analýzy tvrdia, že bez odborných rád profesora by Banting a Best nemohli byť úspešní a bez Collipa by nebolo možné vyriešiť čistenie a výrobu inzulínu [18].

Nezávisle od Bantinga a Besta izoloval inzulín už predtým aj rumunský fyziológ Nicolas Paulescu, ale napriek tomu, že jeho článok vyšiel v renomovanom vedeckom časopise v roku 1921, jeho priorita dlho nebola uznaná. Zásluhu na jeho posmrtnom uznaní mal profesor Rolf Luft a náš profesor Rudolf Korec [19–22].

Najväčší americký diabetológ Elliot Proctor Joslin (1870–1961) na začiatku svojej lekárskej dráhy nemohol pre svojich chorých urobiť skoro nič. Objav inzulínu prirovnal zážitku proroka Ezechiela (Ez 37, 1,5,6), ako je to popísané v Starom Zákone:

„Vzniesla sa nado mnou ruka Pánova i vyviedol ma v duchu Pánovom a položil ma uprostred údolia, ktoré bolo plné kostí. Hľa vložím do vás ducha, že ožijete! Pokladiem na vás žily, poobkladám vás mäsom, obtiahnem vás kožou, vložím do vás ducha, že ožijete a dozviete sa, že ja som Pán.”

Joslin sa dožil vysokého veku a bol svedkom a tvorcom rozvoja modernej diabetológie. Spojil 3 princípy liečby (diéta, pohyb a inzulín) do jedného logického celku. Veľmi skoro prišiel na to, že výchova a motivácia chorých je predpokladom úspešnej liečby cukrovky a tvrdil, že diabetik má byť aj svojim vlastným diabetológom [23]. Na jeho klinike v Bostone za jeho života liečili a vrátili do aktívneho života viac ako 2 milióny diabetikov.

Aj ďalší rozvoj našich vedomostí o diabete je mimoriadne zaujímavý a plný prekvapení (a Nobelových cien). Len niekoľko príkladov:

- Prečítanie poradia aminokyselín v molekule inzulínu (Frederick Sanger, 1953, Nobelova cena 1958). *Pozn. autora: V roku 1967 prednášal na Lekárskej fakulte Univerzity P. J. Šafárika. Prvý autor tejto práce ako študent 2. ročníka medicíny sedel na tejto prednáške a počúval Sangerovu víziu o sekvenovaní nukleových kyselín.*
- Objav a zavedenie perorálnych antidiabetík. (Hypoglykemické účinky derivátov sulfonylurey boli objavené pri výskume chemoterapeutík po 2. svetovej vojne a do liečby boli zavedené v roku 1955. Biguanidy boli zavedené do liečby diabeteu okolo roku 1957).
- Objav a zavedenie rádioimunologických metód na stanovenie inzulínu a iných peptidových hormónov (Rosalyn Yalow a Solomon Berson, 1959, Nobelova cena 1977). *Pozn. autora: Bývalá prednostka Ústavu patofyziológie našej fakulty, doc. MUDr. Anna Šofranková, CSc. bola začiatkom 70. rokov na študijnej ceste v USA u Yalowovej a Bersona a bola priekopníčkou RIA metód v našej krajine.*
- Objav glykácie hemoglobínu a iných bielkovín, neskorých produktov glykácie bielkovín, oxidačného poškodenia tkanív v patogenéze komplikácií diabeteu (Samuel Rahbar a mnohí iní; 1968–1990).

Záver

Poznáme mená lekárov a vedcov, ktorí sa zaslúžili o objav inzulínu, odhalili podstatu a patogenézu jednotlivých foriem diabetes mellitus, vypracovali moderné spôsoby liečby a monitorovania tejto choroby. „Mená“ tisícov experimentálnych zvierat si nepamätáme, hoci bez nich by bol medicínsky výskum nemožný. K najschopnejším experimentátorom v oblasti výskumu diabeteu patril aj prvý prednosta Ústavu patologickej fyziológie LF UPJŠ Košice, profesor Rudolf Korec. Pamiatke experimentálnych zvierat je venovaný reliéf Amelie Peabodyovej, ktorého originál sa nachádza na Joslinovej klinike v Bostone. Nadpis reliéfu je: „To those who give their lives for the welfare of mankind.“

Literatúra

1. Schadelwaldt H. The history of diabetes mellitus. In: Engelhardt D (ed). Diabetes, its medical and cultural history. Springer Vlg: Berlin-Heidelberg 1989: 43–100. ISBN 3–540–80950-X.
2. Galajda P, Bukovská A, Mokáň M (eds). História diabetes mellitus. In: Mokáň M, Martinka E, Galajda P. Diabetes mellitus a vy-

brané metabolické ochorenia. P+M: Martin 2008: 11–18. ISBN 978–80–969713–9–8.

3. Buzás GM. A diabetológia története [História diabetológie]. Akadémiai Budapest 2010. ISBN 9789630555447. [Hungarian]
4. Kopecký A. Dějiny cukrovky. Sdružení rodičů a přátel dětí s cukrovkou v ČR: 2000.
5. Škrha J. Historie. In: Škrha J (ed). Diabetologie. Galén: Praha 2009. ISBN 978–80–7262 607–6.
6. Macfarlane JA. The millenia before insulin. In: Pickup J, Garreth W (eds). Textbook of diabetes mellitus. Vol 1. Blackwell: London 1991: 3–9. ISBN 0–632–03056–9.
7. Fövényi J. A cukorbetegség és az inzulín felfedezésének előtörténete [Predhistória objavu cukrovky a inzulínu]. Diabforum 2021; 3: 4–7. [Hungarian]
8. Langerhans P. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse. Inaugural Dissertation Med. Fakultät, Friedrich Wilhelms Universität Berlin, 1869. [German]
9. Mering JV, Minkowski O. Diabetes mellitus nach Pankreasextirpation. Arch Exp Pathol Pharmacol 1890; 26: 371–387. [German]
10. Gley E. Action des extraits de pancreas sclerose sur des chiens diabetiques (par extirpation du pancreas.) CR Seances Soc Biol 1905; 2: 1322–1325. Dostupné z WWW: <<https://insulin.library.utoronto.ca/islandora/object/insulin%3AT10169>>. [French]
11. Zülzer G. Über Versuche einer spezifischer Fermentherapie des Diabetes. J Exp Pathol 1908; 5: 307–318. Dostupné z WWW: <<https://insulin.library.utoronto.ca/islandora/object/insulin%3AT10184>>. [German]
12. Scott EL. On the influence of intravenous injections of an extract of the pancreas on experimental pancreas diabetes. Am J Physiol 1912; 29(3): 306–310. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1912.29.3.306>>.
13. Barthold SW. Unsung heroes in the battle against diabetes. ILAR J 2004; 45(3): 227–230. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ilar.45.3.227>>.
14. Buzás GM. A diabetes mellitus laboratóriumi diagnózisának története. [História laboratórnej diagnostiky diabetes mellitus]. In: Buzás GM. A diabetológia története. [História diabetológie] Akadémiai Budapest 2010: 147–189. ISBN 9789630555447. [Hungarian]
15. Banting FG, Best CH, Collip JB et al. Pancreatic extracts in the treatment of insulin. Can Med Assoc J 1922; 12(3): 141–146.
16. Banting FG, Best CH. The internal secretion of the pancreas. J Lab Clin Med 1922; 7(5): 1046–1021. Dostupné z DOI: <<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1987.tb07442.x>>.
17. Banting FG, Campbell WR, Fletcher AA. Further clinical experience with insulin (pancreatic extracts) in the treatment of diabetes mellitus. Br J Med 1923; 1(3236): 8–12. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.1.3236.8>>.
18. Williams MJ. Professor Macleod's role in diabetes history. Practical Diabetes 1990; 8: 118
19. Paulescu NC. Research on the role of pancreas on nutrient assimilation. [Recherche sur le role du pancreas dans l'assimilation nutritive.] Arch Int Physiol 1921; 16: 85–103. [French]
20. Martin E. Problems of priority in the discovery of insulin. In: Engelhardt D (ed). Diabetes, its medical and cultural history. Springer Vlg: Berlin-Heidelberg 1989: 420–426. ISBN 3–540–80950-X.
21. Bliss M. The discovery of insulin. University of Chicago Press: 2013. ISBN: 0–226–05899–3.
22. Fralick M, Zinman B. The discovery of insulin in Toronto: beginning a 100-year journey of research and clinical achievement. Diabetologia 2021; 64(5): 947–953. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00125-020-05371-6>>.
23. Joslin EP. Diabetic manual for the doctor and patient. 9th ed. Lea & Febiger: 1953.