

Sondernummer:
50 Jahre der
Entschlüsselung
der Insulinstruktur

BioFokus

Insulin – eine Erfolgsgeschichte
der modernen Medizin

Prof. Dr. Vladimir Pliska, Collegium Helveticum Zürich

Prof. Dr. Gerd Folkers, Collegium Helveticum Zürich

Prof. Dr. Alex N. Eberle, Universitätsspital Basel

Forschung für Leben



Impressum

Autoren:

Vladimir Pliska
Collegium Helveticum, ETH und Universität Zürich
ETH-Zentrum/STW
Schmelzbergstrasse 25, 8092 Zürich
pliska@collegium.ethz.ch

Gerd Folkers
Collegium Helveticum, ETH und Universität Zürich
ETH-Zentrum/STW
Schmelzbergstrasse 25, 8092 Zürich
folkers@collegium.ethz.ch

Alex N. Eberle
Departement Forschung, Abt. Endokrinologie
Universitätsspital Basel
Klingenbergstrasse 23, 4031 Basel
eberle@ubaclu.unibas.ch

Redaktion:

Prof. Dr. Vladimir Pliska,
Astrid Kugler, dipl. geogr.

Gestaltung:

Dominik Ogilvie

Herausgeber:

Verein «Forschung für Leben»

Präsident:

Prof. Dr. Adriano Aguzzi

Geschäftsstelle:

Verein «Forschung für Leben»
Postfach 876, 8034 Zürich
Tel. 044 365 30 93, Fax 044 365 30 80
contact@forschung-leben.ch
<http://www.forschung-leben.ch>

Bankverbindung:

ZKB Wiedikon (BC 715), Kto. 1115-1277.952

Der Verein «Forschung für Leben», gegründet 1990, bezweckt die Information der Bevölkerung über die Ziele und die Bedeutung der biologisch-medizinischen Forschung. Er bringt den Nutzen, aber auch die Gefahren, die sich aus der Forschung ergeben, einfach und klar zur Sprache.

Insulin – eine Erfolgsgeschichte der modernen Medizin

Frederick Sanger: Start zur künstlichen Herstellung von Insulin vor 50 Jahren

Die Medizin des 20. Jahrhunderts begab sich oft auf dornenreiche Wege, und oft waren Misserfolge der Lohn aller Anstrengungen. Doch der Kampf gegen die Zuckerkrankheit gehört zu den ganz grossen Erfolgsgeschichten der Medizin des letzten Jahrhunderts. Leider ist die damit verbundene, grossartige medizinische Leistung im Bewusstsein der Allgemeinheit nicht verankert, obwohl heute das gentechnisch hergestellte Insulin täglich Millionen von zuckerkranken Menschen ein relativ beschwerdefreies Leben erlaubt.

Die Geschichte des Insulins beginnt mit dem Nachweis und der Gewinnung einer blutzuckersenkenden Substanz in der Bauchspeicheldrüse, dem Pankreas, durch eine Forschergruppe an der Universität Toronto im ersten Viertel des 20. Jahrhunderts. Diese Substanz, zuerst «Isletin» später «Insulin» genannt, wurde während der folgenden drei Dekaden aus den Bauchspeicheldrüsen von Schweinen gereinigt, isoliert und sogar in einer kristallinen Form gewonnen. Doch erst vor 50 Jahren, im Jahre 1955, gelang es briti-

schen Biochemikern unter der Leitung von Frederick Sanger die Struktur des Insulins restlos zu klären, und damit den Weg zu einer *chemischen und später biotechnologischen* Synthese frei zu machen. Das fünfzigjährige Jubiläum ist Anlass für den Rückblick auf eine lange medizinische Forschung, die gewiss ihr Ziel erreicht hat.

Diabetes mellitus – die Zuckerkrankheit

Diabetes ist auch heute noch eine besorgniserregende Erkrankung. Ihre Prävalenz (Anzahl Kranke in der Gesamtpopulation) ist in der westlichen Welt hoch und beträgt 1–5 Prozent. In den USA sind es zum Beispiel 12 Millionen Fälle bei einer Bevölkerung von 275 Millionen Einwohnern, in Deutschland sind es 800 000 Fälle auf 82 Millionen Einwohnern. Die Inzidenz (Anzahl der Neuerkrankungen pro Zeiteinheit) liegt bei etwa 0,07 Prozent pro Jahr, in den USA also beispielsweise bei 200 000. Unterschiede in der Prävalenz gibt es bei einzelnen Bevölkerungsgruppen, was auf einen Einfluss der genetischen Konstellation hinweist. Nimmt man etwa die Prävalenz der weissen Population in den USA als 100 Prozent, liegt sie für die Afroamerikaner bei 191 Prozent, für die hispanische Population bei 161 Prozent und bei den übrigen Bevölkerungsgruppen (vorwiegend Asiaten) bei 143 Prozent. Bei Frauen ist sie generell um etwa 22 Prozent höher als bei Männern. Das Auftreten der Zuckerkrankheit hängt auch vom Alter der betroffenen Person ab (*Abb. 1*), weist aber darüber hinaus Zusammenhänge mit demographischen, regionalen und anderen Faktoren auf. In der Schweiz gibt es z.B. im östlichen Landesteil wesentlich mehr Zuckerkrankte als in den westlichen Kantonen (6,5 Prozent gegenüber 4,3 Prozent bei den Männern und 6,9 Prozent gegenüber 5,2 Prozent bei den Frauen).

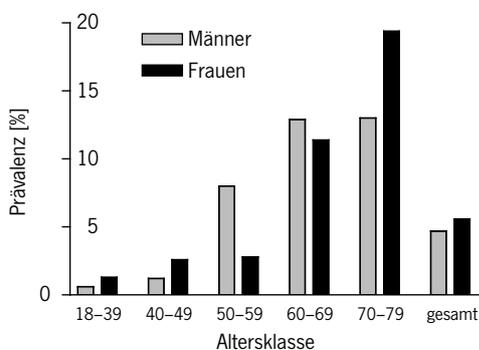


Abb. 1 — Prävalenz der Zuckerkrankheit in der Schweiz, Stand 1999. Prävalenz in Prozenten der Gesamtpopulation in der entsprechenden Altersklasse.

Bekanntlich gibt es zwei Typen von Diabetes, die man heute als Typ I (früher: juveniler Diabetes) und Typ II (Altersdiabetes) bezeichnet. In ihrem Hauptsymptom, der erhöhten Blutzuckerkonzentration unterscheiden sie sich prinzipiell nicht. Ihre Ursachen und die übrigen biochemischen Befunde sind allerdings recht unterschiedlich. Beim Typ I degenerieren oft schon im jungen Alter die insulinproduzierenden Zellen des Pankreas und es wird kein für die Blutzuckerregulation notwendiges Insulin ausgeschüttet. Es gibt klare Hinweise, dass diese Zellzerstörung durch eine autoimmune Reaktion erfolgt, indem das Immunsystem des Körpers körpereigene Zellen angreift. Diese Reaktion kann im Kindesalter durch virale Infekte gefördert oder sogar ausgelöst werden, wie experimentell an transgenen Mäusen durch die Arbeitsgruppen von Rolf Zinkernagel und Hans Hengartner in Zürich gezeigt worden ist. Beim Typ II dagegen ist das Insulin im Blut vorhanden, manchmal sogar in etwas höheren Konzentrationen als normal, aber die Glucose-Regulation versagt trotzdem. Hier können die Ursachen recht mannigfaltig sein und ihre Abklärung erweist sich üblicherweise als sehr schwierig. Auffallend ist, dass die meisten Patienten mit diesem Diabetes-Typ übergewichtig sind. Grundsätzlich ist es aber so, dass die Gewebe, die das Glucose-Gleichgewicht im Organismus regulieren und durch Insulin gesteuert werden, entweder nicht mehr oder dann vermindert funktionstüchtig sind.¹ In solchen Fällen hilft ein Insulin-Ersatz nur bedingt und nicht bei allen Patienten.

Heute verlangt jede Form des Diabetes viel Aufmerksamkeit, richtige Therapie und medizinische Pflege. Die Krankheit ist auch sehr kostspielig. Obwohl genauere Angaben fehlen, darf man davon ausgehen, dass die Lebenserwartung eines Diabetikers etwas kürzer ist als diejenige eines Nichtdiabetikers, denn meist begleiten zusätzliche degenerative Komplikationen wie Seh- und Blutzirkulationsstörungen, Nierenerkrankungen oder Arteriosklerose die Krankheit. Der frühzeitige Tod droht jedoch nicht mehr und die Lebensqualität der Patienten hat sich enorm verbes-

sert – sie unterscheidet sich nicht mehr wesentlich von derjenigen der Gesunden.

Bis in die Mitte der 20er-Jahre des letzten Jahrhunderts war dies allerdings anders. Mit dem Typ II konnten die Patienten zwar noch etwa eine halbe Dekade nach Ausbruch der Krankheit leben. Ihr Leben war aber besonders in den mittleren und fortgeschrittenen Stadien der Krankheit beklagenswert. Alle Patienten starben schliesslich, völlig abgemagert, in einem schweren diabetischen Koma. Die jungen Erkrankten mit dem Typ I überlebten kaum die Pubertät.

Der Umbruch kam im Jahre 1921, als der damals noch unbekannt kanadische Arzt Frederick Grant Banting (1891–1941) und der Biologiestudent Charles Herbert Best (1899–1978) unter recht primitiven Bedingungen in Toronto ihre Versuche an Hunden begannen.

Die Entdeckung des Insulins

Diabetes war seit dem Altertum als eine Krankheit bekannt, bei der man einen grossen Durst empfand und vermehrt Urin ausschied. Ihr Hauptsymptom, die erhöhte Zuckerausscheidung im Urin, wurde spätestens Mitte des 17. Jahrhunderts erkannt. Der damals bedeutendste englische Anatom und Arzt Thomas Willis (1621–1675) bemerkte, dass der Urin von Patienten, bei denen auf Grund des grossen Durstes Diabetes diagnostiziert worden war, eine zuckerähnliche Substanz enthält (von daher kommt das Adjektiv «mellitus», honigsüss). Die beiden britischen Militärärzte Francis Home (1719–1813) und John Rolo (1749–1809) konnten gegen das Ende des 18. Jahrhunderts den Zucker² im Urin und später im Blut nachweisen.

Im Jahr 1889 untersuchten zwei deutsche Physiologen in Strassburg, Joseph von Mering (1849–1908) und Oskar Minowski (1858–1931), die Rolle der Bauchspeicheldrüse (Pankreas, *siehe Abb. 2*) im Metabolismus von Fetten. Dabei wollten sie feststellen, was in einem Tier nach der chirurgischen Entfernung dieser Drüse³ passiert. Zu ihrem Erstaunen beobachteten sie, wie die so behandelten Hunde sehr schnell an Körpergewicht und Kräften verloren, ständig tranken und an schwerer Glykoseurie⁴ litten. Sie starben im Kachexie-

1 Es wird angenommen, dass der Diabetes Typ II aus einer allgemeinen Insulin-Resistenz des betroffenen Organismus hervorgeht und ein metabolisches Syndrom zur Folge haben kann, das zu einem erhöhten Risiko für koronare Herzkrankheit und Herzinfarkt führt. Genetische Prädisposition, verstärkt durch Fettleibigkeit, ist eine wichtige Voraussetzung.

2 Viel später wurde dieser Zucker als Glukose identifiziert.

3 Den Eingriff bezeichnet man als Pankreatektomie.

4 Ausscheidung von Zucker im Harn

Zustand⁵ spätestens zehn Tage nach dem Eingriff. Minikowski und von Mering haben damit eine etwas frühere Hypothese des französischen Physiologen Gustave-Edouard Laguesse (1861–1927) bestätigt. Dieser hatte vermutet, dass die Zellanhäufungen, welche der junge deutsche Pathologe Paul Langerhans (1847–1888) im Rahmen seiner Dissertation im Jahre 1869 gefunden hatte, eine endokrine Funktion besitzen. Laguesse bezeichnete diese Zellanhäufungen als «Langerhans-Inseln». Von «Hormonen» wurde allerdings noch nicht gesprochen.

Unterstützt wurde die Hypothese von Gustave-Edouard Laguesse auch durch die Versuche des russischen Physiologen Leonid V. Sobolev (1876–1919) und des amerikanischen Pathologen Eugene Lindsay Opie (1873–1971). Der Erste unterband um 1900 den Ausführungsgang des Pankreas von Hunden und damit den Abgang des pankreatischen Saftes (dessen Funktion in der Verdauung bereits bekannt war) in den Zwölffingerdarm. Die an der Produktion dieses Saftes beteiligten Zellen, die jetzt ihre physiologische Rolle nicht mehr spielen konnten, haben durch den Eingriff degeneriert und sind verschwunden. Die Tiere litten zwar an Verdauungsstörungen, nicht jedoch an Diabetes. Sein etwas vorschneller Schluss (anscheinend ohne histologischen Befund) war, dass die Langerhans-Inseln dabei nicht degeneriert haben und weiterhin ihr noch unbekanntes endogenes Sekret⁶ produzierten. Der Zweite, Eugene Opie, schloss aus seinen mikroskopischen Untersuchungen an Bauchspeicheldrüsen verstorbener Typ-I-Diabetiker, dass zwischen den Langerhans-Inseln und Diabetes ein Zusammenhang bestehen muss. Er fand spezifische Läsionen⁷ der Inselzellen bei dem übrigen, sonst unbeschädigten Pankreas-Gewebe.

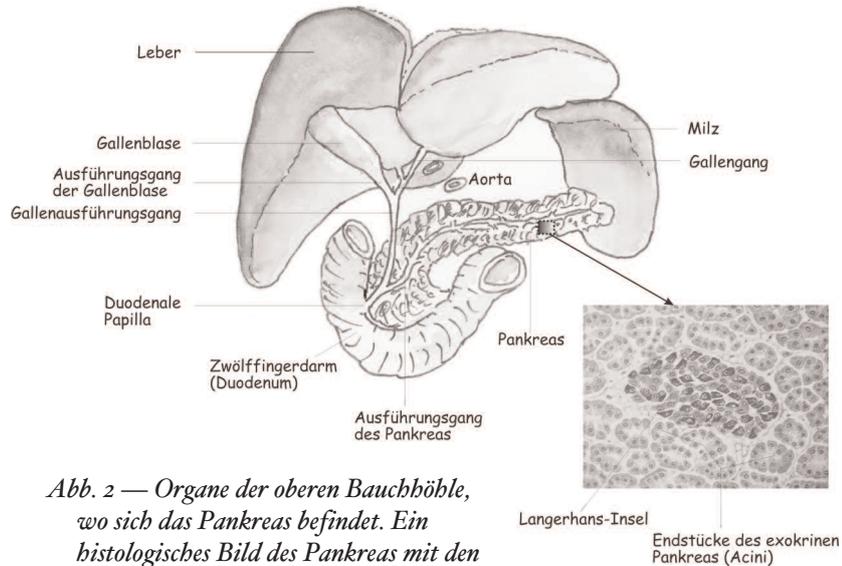


Abb. 2 — Organe der oberen Bauchhöhle, wo sich das Pankreas befindet. Ein histologisches Bild des Pankreas mit den Langerhans-Inseln ist rechts unten.

Im Jahre 1908 benutzte der Berliner Kinderarzt und Diabetologe Georg Ludwig Zuelzer (1870–1949 oder 1952) zum ersten Mal Extrakte aus dem Kalbspankreas, genannt «Acomatol», zur Herabsetzung der Glucosekonzentration im Urin von glykämischen Patienten. Obwohl seine Extrakte verständlicherweise viele «fremde» Substanzen enthielten, weil die damaligen Reinigungsmethoden noch sehr rudimentär waren, zeigten sie klare positive Effekte. Es kam jedoch auch zu Nebenwirkungen, die man bereits in Tierexperimenten beobachtet hatte: Zittern, Schweißausbrüche und Tachykardie⁸, so dass das Acomatol nicht mehr eingesetzt wurde. Man neigt heute übrigens zur Annahme, dass die Nebeneffekte nicht wegen der Unreinheiten, sondern eher durch eine Überdosierung und der nachfolgenden Hypoglykämie⁹ aufgetreten sind.

Den Impuls für seine Arbeiten erhielt Banting durch einen nicht sehr bedeutungsvollen Artikel von Moses Barron vom 5. November 1920 in *Surgery, Gynecology and Obstetrics*¹⁰. Barron hatte bei pankreatischer Lithiasis festgestellt, dass die so genannten azinischen Zellen im Pankreas, die sich mit der Ausschüttung von Enzymen an der Produktion des

5 Kräftezerfall, Auszehrung

6 Endogenes Sekret: Stoffe, die aus einer Drüse direkt in die Blutzirkulation abgegeben werden (im engeren Sinne handelt es sich um Hormone).

7 Schädigungen, Verletzungen

8 Beschleunigter Herzschlag

9 Zu tiefe Glukose-Konzentration im Blut

10 Bd. xxxi, S. 437–448: *The Relation of the Islets of Langerhans to Diabetes with Special Referendes to Cases of Pancreatic Lithiasis*. (Die Beziehung zwischen Langerhans-Inseln und Diabetes in Bezug auf die Fälle von pankreatischer Lithiasis; Fallbeschreibung eines einzigen Patienten; Lithiasis = Steinleiden)

pankreatischen Saftes beteiligen, stark reduziert wurden, die Zellen der Langerhans-Inseln jedoch unbeschädigt blieben. Banting, der zu dieser Zeit als Allgemeinpraktiker und nebenamtlich als Hilfsdozent für Orthopädie an der West-Ontario-Universität in London (Kanada) wirkte, und noch nicht einmal den Doktor-Titel besass (M.D. – Dr. med. – wurde er im Jahre 1922), kam auf die Idee, dass die so degenerierte Bauchspeicheldrüse eine Quelle für die Gewinnung der unbekannt antidiabetischen Substanz sein könnte: Sind die Verdauungsenzyme¹¹ nicht mehr vorhanden, so seine Überlegung, ist die Gefahr gering, dass die noch unbekannt Substanz bei ihrer Reinigung enzymatisch abgebaut würde. Er beschloss, eine ähnliche Degeneration durch chirurgisches Unterbinden des pankreatischen Ausgangs in den Zwölffingerdarm zu erreichen.

Er überredete den Chef des Physiologischen Instituts der Universität Toronto, Professor John James Rickard (Richard) Macleod (1876–1935), ihm einige wenige Hunde zu überlassen und für kurze Zeit ein Labor mit einem Assistenten zur Verfügung zu stellen. Dieser Assistent war Charles Best. Mit ihm zusammen führte Banting im Jahre 1921 die ersten Operationen durch und nahm die anschließenden Untersuchungen vor. Nach einigen Misserfolgen hatten sie eine Operationstechnik für die partielle Blockade des pankreatischen Ausgangs entwickelt, die tatsächlich zur Degeneration der Bauchspeicheldrüse führte. Diese extrahierten sie im eiskalten Ringer-Puffer (bei nahezu neutralem pH) und filtrierten den Extrakt. Die Extrakte injizierten sie Hunden, bei denen Diabetes durch die Entfernung der Bauchspeicheldrüse induziert worden war. Schon die ersten Versuche zeigten, dass deren Blutzuckerkonzentration auf 50 bis 60 Prozent reduziert werden konnte.

Da die Gewinnung der Extrakte sehr anspruchsvoll war und vielen Hunden das Leben kostete, schauten sie sich nach einer anderen Quelle um. Der Publikation von Laguesse hatten sie entnommen, dass im Pankreas von Tierföten das Verhältnis von Insel-Zellen zu azinischen Zellen viel grösser ist als nach der Geburt. Im Schlachthof wurden sie fündig. Die Tierzüchter liessen nämlich oft trüchtige Kühe schlachten, weil sie fetter waren und deshalb einen grösseren Erlös einbrachten.

Den Kälberföten entnahmen sie das von ihnen gesuchte Pankreasgewebe. Wahrscheinlich auf den Rat von Macleod änderten sie die Extraktionsprozedur und benützten anstelle von Ringer-Lösung Alkohol und säuerten diesen, um die unbekannt Substanz vor der Wirkung der Enzyme möglichst zu schützen, mit Schwefelsäure an. Sie hatten richtig vermutet, dass die pankreatischen Enzyme im sauren Milieu nicht aktiv sind. Die so gewonnenen Extrakte wurden schonend getrocknet und die Fettstoffe mit Toluol entfernt. Mit dem gelösten Pulver liess sich der Blutzucker auf beachtliche 16 Prozent senken. In einem weiteren Schritt konnten sie feststellen, dass die Extrakte aus den Drüsen von Schlachtieren gleiche Effekte hervorrufen, wenn die Extraktion in leicht saurer Lösung erfolgte.

Es muss angemerkt werden, dass weder Banting noch Best – und auch nicht Macleod – grundlegende biochemische Kenntnisse besaßen, die für die Isolation und Reinigungen eines Stoffes aus biologischem Material nötig sind. Diese Aufgabe übernahm Ende 1921 ein junger Biochemie-Professor aus Edmonton (University of Alberta), James Bertram Collip (1892–1962), der in jener Zeit für einen Forschungsaufenthalt in Toronto weilte. Collip hat alle bereits bestehenden Stufen der Isolation sorgfältig überprüft und eine neue Prozedur, basierend auf der fraktionierten Präzipitation¹² der Extrakte mit 70–95 Prozent Alkohol eingeführt.

In der ersten Hälfte des Jahres 1922 wagten Banting und Best die Präparate von Collip an Diabetes-Patienten zu testen. Ihr erster Patient war Leonard Thompson, ein 14-jähriger Knabe mit schwerem Diabetes Typ I. Sein Zustand verbesserte sich innert weniger Wochen, allerdings nach einer nicht sehr erfolgreichen Anfangsphase. Dank der Insulin-Therapie lebte er ohne nennenswerte Beschwerden weitere 13 Jahre (er starb dann an einer Pneumonie). Ein Arzt und Schulkollege von Frederick Banting, Dr. Joseph Gilchrist, der schon fünf Jahre an einem schweren Diabetes (anscheinend Typ I) litt, war ein weiterer Patient, dem ab Mitte 1922 die regelmässige Verabreichung des Insulin-Präparats zu einem normalen Leben verhalf. Weitere Patienten aus dieser ersten Periode des Insulins lebten sehr lange: Teddy Ryder, dem im 5. Lebensjahr Diabetes diagnostiziert wurde, starb

11 Trypsin, Chymotrypsin, Carboxypeptidasen, Elastase

12 Stufenartige Fällung der Substanzen bei verschiedenen Alkoholkonzentrationen

mit 76, Jim Havens, der erste Amerikaner, der mit Insulin behandelt wurde, mit 59 Jahren; Elisabeth Ewans Hughes (verheiratete Gossett) erkrankte im Alter von 11 Jahren und starb mit 73; sie erhielt während ihres Lebens 43 000 Insulin Injektionen und führte ein fast völlig normales Leben. Ein solch unerwarteter und triumphaler Erfolg wiederholt sich in diesem Ausmass in der Medizin sehr selten.

Schon die ersten Resultate waren so überzeugend, dass der Forschungsdirektor des Pharma-Unternehmens Eli Lilly (Indianapolis, IN), Dr. Georges Henry Alexander Clowes, die Produktion von Insulin aus Schweine- und Rinderbauchspeicheldrüsen bereits im Mai 1922 einführte. Seit dem Herbst jenes Jahres stand den meisten Diabetikern das gereinigte, chemisch jedoch immer noch nicht entschlüsselte Insulin zur Verfügung. Einen ersten wichtigen Schritt zur Erkennung seiner chemischen Struktur gelang jedoch im Jahre 1926 zwei Chemikern an der John Hopkins University in Baltimore, Eugene Maximilian Karl Geiling (1891–1971) und John Jacob Abel (1857–1938). Aus den Präparaten gewannen sie nach Zugabe von Zinksalzen reines kristallines Insulin.

Lehren aus der Insulingeschichte

Der Erfolg des Insulins war so gross, dass Animositäten und Prioritätsstreitigkeiten nicht ausblieben. Schon bald kam es zu Verstimmungen zwischen Banting und Macleod, weil Banting diesen der mangelnden Unterstützung und später sogar des Diebstahls seiner Resultate bezichtigte. In der Tat war jedoch die Rolle von Macleod bei diesen Experimenten nicht so negativ, wie man sie nachträglich oft schilderte. Immerhin hatte er den beiden jungen Wissenschaftlern die Versuchsarbeiten an seinem Institut ermöglicht, einige nützliche Ratschläge gegeben und insbesondere hat er sich selbst aktiv eingesetzt, als er sah, dass die Versuche wichtige Resultate lieferten. Er hat, wie die anderen, seine Rolle in der Geschichte des Insulins gespielt, und nicht eine unbedeutende. Sein Verhalten war vom heutigen Standpunkt aus sogar grosszügig: ein wissenschaftlich nicht ausgebildeter junger Arzt hatte ihn um Unterstützung für ein nicht professionell durchdachtes Projekt gebeten, das überdies schon in den Händen von mehreren Forschern zu keinen positiven Resultaten geführt hatte. Welcher Institutsleiter könnte dies heute verantworten? Mac-

leod riskierte es trotzdem und machte damit den Weg frei für eine der bedeutendsten Entdeckungen der modernen Medizin.

Ein offener Konflikt entstand Ende Januar 1922 zwischen Collip und Banting. Collip wollte den beiden Experimentatoren seine erfolgreiche Reinigungsprozedur der pankreatischen Extrakte nicht verraten und deutete sogar an, dass er sie selber nach Absprache mit Macleod patentieren möchte. Banting liess sich fast zu handgreiflichen Attacken hinreissen. Macleod schlichtete den Streit mit dem Resultat, dass alle Beteiligten auf eine Patentierung des Insulins zu jenem Zeitpunkt verzichteten.¹³

Nobel-Preis 1923

Die oft impulsive Natur von Frederick – später Sir Frederick – Banting zeigte sich auch bei der Verleihung des Nobel-Preises für Medizin¹⁴ im Jahre 1923, welcher ihm und Macleod zugesprochen wurde. Im ersten Moment nach der Bekanntgabe wollte er auf den Preis verzichten, zum einen weil Macleod seiner Meinung nach keinen Verdienst bei der Entwicklung des Insulins vorzuweisen hatte, und zum anderen, weil Charles Best ausgelassen wurde. Erst als ihn sein Freund und Förderer, John Gerald Fitzgerald (1882–1940), Professor für Hygiene in Toronto, und der hoch respektierte Mäzen der Universität, Colonel Albert Gooderham (1861–1935), beruhigte, erkannte er den nationalen Wert einer solchen Auszeichnung für Kanada und sah vom Absagetelegramm nach Schweden ab. Er gab aber sofort bekannt, dass er seinen Anteil mit Charles Best teilen werde. (Macleod teilte seine Hälfte später mit James Collip). An der Übergabezeremonie am 10. Dezember 1923 in Stockholm waren jedoch weder Banting noch Macleod anwesend.

Der Entscheid des Nobel-Komitees war tatsächlich etwas merkwürdig und gewiss

-
- 13 Insulin wurde im Laufe des Jahres 1922 in Kanada patentiert, das Patent wurde dann sofort an die Leitung der Universität Toronto und von dort an den reputativen kanadischen Medical Research Council (MRC) übergeben. Das einzig deklarierte Ziel der Patentierung war zu verhindern, dass eine andere Person Insulin patentieren und sich damit ein Monopol auf die Herstellung sichern würde. Lizenzen wurden dann sehr grosszügig an einzelne Länder abgegeben.
- 14 Offizielle Bezeichnung: *Nobel-Preis für Physiologie oder Medizin*.

durch Hierarchiedenken geleitet. Bis heute wird er in der akademischen Kommunität nicht allgemein verstanden und als einer der dubiosesten Entscheide dieses Gremiums bezeichnet. Nicht nur Charles Best wurde übergegangen, sondern auch der rumänische Endokrinologe Nicolas Constantin Paulesco (1869–1931), der zur gleichen Zeit zu gleichen Resultaten wie Banting und Best kam. Nach der Öffnung der Nobel-Archive im Jahre 1974 stellte sich heraus, dass für den Beschluss des Komitees die Aussage eines Komitee-Mitglieds¹⁵, wenn auch eines prominenten, entscheidend war, der als Einziger die Szene in Toronto besucht und dort mit den Beteiligten längere Gespräche geführt hatte.

Prioritätsansprüche

Eine Reihe von Forschern und Ärzten machte nach der Verleihung des Nobel-Preises darauf aufmerksam, dass sie oder ihre Kollegen bei der Entdeckung des Insulins eine Vorreiterrolle gespielt haben oder zu gleichen Resultaten wie die Toronto-Gruppe gelangt waren. So hatte in der ersten Dekade des 20. Jahrhunderts bereits Georg Ludwig Zuelzer dieselbe Idee gehabt wie Banting. Es ist zu vermuten, dass Banting dessen Arbeiten nicht kannte, denn er war zu Beginn seiner Forschungsarbeiten in der Fachliteratur nicht sehr belesen. Zuelzers Arbeiten waren auf Deutsch publiziert worden, in einer Sprache, die Banting nicht beherrschte. Der Historiker Michael Bliss fand in den Archiven des Nobel-Komitees einen Brief von Zuelzer, in dem er – «pathetisch», wie Bliss schreibt – die Anerkennung seiner Priorität verlangte. Nicolas Paulesco aus Bukarest, der tatsächlich vor Banting und Best in den Jahren 1920–1921 ähnliche Resultate mit den pankreatischen Extrakten auf französisch publiziert hatte, beschuldigte die Toronto-Gruppe sogar des «Diebstahls» und verlangte eine Revision des Entscheids. Das alles kann, *cum grano salis*, wahr sein. Der entscheidende Faktor damals aber war die Zeit. Paulesco war sich möglicherweise der pragmatischen Auswirkung dieser Arbeit nicht voll bewusst und präsentierte medizinisch nicht brauchbare Präparate. In dieser Hinsicht war das Toronto-Team einfach schneller.

Eine etwas dubiose, in der Literatur üblicherweise nicht erwähnte Geschichte dreht

sich um den Pariser Physiologie-Professor am Collège de France, Marcel Eugène Emile Gley (1857–1930). Bereits in den 90er-Jahren des 19. Jahrhunderts hatte er Extrakte aus der Bauchspeicheldrüse untersucht, die in der Herstellung und den Auswirkungen denjenigen von Banting und Best sehr ähnlich waren. Unklar bleibt, warum er seine Resultate nicht publizierte. Stattdessen hatte er die Protokolle versiegelt und bei der französischen Societé de Biologie deponiert. Auf seinen Wunsch hin wurden sie erst im Dezember 1921, nachdem die ersten Resultate aus Toronto bekannt geworden waren, geöffnet. Zweifelte er seine eigenen Resultate an? Oder hatte er andere, uns unbekannte und vielleicht sogar legitime Gründe für sein Vorgehen? Jedenfalls stellt sich die Frage, warum so wichtige Resultate so lange geheim gehalten wurden. Man neigt dazu, ein solches Handeln als ethisch sehr dubios und unverantwortlich zu bezeichnen.

Dem Erfolg sehr nahe war auch der junge Forscher Israel Simon Kleiner (1885–1966), der am Rockefeller-Institut in New York mit dem bekannten Physiologen und Kliniker Samuel James Melzel (1851–1920)¹⁶ arbeitete. In seinen zwischen 1915 und 1919 in hoch angesehenen Zeitschriften publizierten Arbeiten wurden die Grundlagen der Insulinwirkung bereits vor Banting und Best klar beschrieben.

Wie dem auch sei: Die spektakulären klinischen Erfolge, die hier in ihrer Bedeutung hoch über die physiologischen Erkenntnisse herausragten, kamen aus Toronto. So gesehen mag die Entscheidung des Nobel-Komitees verfrüht erscheinen, dennoch war sie gerecht.

Tierversuche bei der Entdeckung des Insulins

Die Arbeiten von Banting, Best und ihren Vorgängern haben Tausenden von Tieren, in der ersten Periode insbesondere Hunden, das Leben gekostet. Die Frage, ob alternative Wege zu gleichen Resultaten geführt hätten, stand immer im Raum. Man muss sie gleich mit einem deutlichen Nein beantworten. Erstens existierte zur Untersuchung der Funktion eines Organs bis in die Mitte des zwanzigsten Jahrhunderts kaum eine Alternative zu einem Versuch am Tier. Übrigens war die Ektomie, die Entfernung von Geweben oder

15 Wahrscheinlich des dänischen Physiologen August Krogh.

16 Melzel selbst litt in den letzten 15 Jahren seines Lebens an Diabetes.

Organen, bis weit ins 20. Jahrhundert Routine in der biomedizinischen Forschung. Nach den damals herrschenden moralischen Vorstellungen war sie nicht bedenklich. Die heutigen Forscher würden sie aus methodischen und ethischen Gründen nur in sehr wohl begründeten Ausnahmefällen anwenden. Zweitens ist es selbst heute noch schwierig, die biologische Aktivität der Insulin-Präparate *in vitro*¹⁷ zu testen. Drittens spielte auch die Zeit eine Rolle. Alle älteren Erkenntnisse und die neuen Resultate der Toronto-Gruppe deuteten auf eine lebensrettende Therapie hin. Es ist eine ethische Frage, ob Verspätungen, die durch eine Abweichung vom eingeschlagenen Weg notwendigerweise verursacht worden wären, im Hinblick auf das Leiden der Diabetiker verantwortbar gewesen wären.

Natürlich sind diese Versuche weder vom juristisch-ethischen noch vom methodischen Standpunkt aus mit den heutigen Standards vergleichbar. In der ersten von Banting und Best durchgeführten Versuchsserie starben, oft wegen experimentellen Fehlern, vierzehn von insgesamt neunzehn Hunden. Die beiden mussten in einem schäbigen Operationsraum arbeiten, die Hunde wurden in Käfigen in den Nachbarräumen gehalten und die Infektionsgefahr war enorm gross. Heute würden sowohl die Wissenschaftler als auch die Behörden solche Umstände keinen Tag lang dulden. Trotzdem sollten wir uns nicht ermächtigt fühlen, die Vergangenheit, in der die Lage völlig anders war, mit unseren heutigen Massstäben zu beurteilen.

Um das Risiko einer neuen Therapieprozedur zu minimieren, werden heute weltweit durch verschiedene Gesetze Versuche an lebenden Organismen vorgeschrieben. Vom heutigen Standpunkt aus haben also Banting, Best und Collip *zu wenige* Tierversuche durchgeführt. Allerdings muss man von grossem Glück sprechen, dass kein medizinischer Zwischenfall bei der Verabreichung ihrer Präparate ihre Arbeit abrupt beendet oder zumindest wesentlich verzögert hat.

Wenn man nur das Endresultat und nicht den Weg dazu betrachtet, haben Banting und Best gewiss auch vom damaligen Standpunkt aus unnötige Versuche durchgeführt. Wie sich zeigte, lieferte die saure Alkoholextraktion des intakten Pankreas genügend reine Insulin-Präparate, womit sich die Notwendig-

keit der Pankreas-Degeneration durch die erwähnten Unterbindungen erübrigt hätte. Es bleibt dahingestellt, ob sie diese Möglichkeiten nicht im vornherein erkannten oder ob sie das «reine» Insel-Gewebe, das sie glaubten durch ihre Methode bekommen zu können, vorgezogen haben. Sie haben aber – methodisch richtig – eine Hypothese getestet und später wieder verworfen. Die pauschalen Behauptungen der Tierversuchsgegner, dass diese Tierversuche «zu keiner neuen Erkenntnis geführt» und sogar «insgesamt gesehen der Diabetesforschung eher geschadet hätten als genützt, da sie Anlass zu falschen Theorien gaben»¹⁸ ist absurd!

Nebenwirkungen und das Risiko-Problem

Die Nebenwirkungen bei den ersten Patienten, die Insulin-Spritzen bekamen, waren oft gefährlich, jedenfalls aber unangenehm. Die Präparate waren zu wenig gereinigt, und schmerzhaft Abszesse an der Injektionsstelle waren häufig. Es kam auch zu gefürchteten hypoglykämischen Reaktionen, weil keine zuverlässige Dosierung möglich war¹⁹. Die behandelnden Ärzte waren sich auch der Gefahr von möglichen toxischen Wirkungen, Pyrogenizität²⁰ und der Immunreaktion auf fremde Proteine²¹ bewusst. Trotzdem überwog bei den Patienten das Bedürfnis nach den Medikamenten, weil die Folgen der Krankheit selbst viel gravierender waren als die Nebenwirkungen. Dies ist jedoch kein spezifisches Problem des Diabetes; auch bei allen anderen Therapien müssen die Risiken kritisch beurteilt werden. Das Verlangen eines «Null-Risikos» jedoch, dessen Garantie einige gesellschaftliche Gruppierungen heute erzwingen möchten, ist völlig hypothetisch.

Insulin als identifizierter Stoff: 50 Jahre

Mit der Kristallisierung des Insulins durch Geiling und Abel wurde die erste Periode der modernen Diabetes-Forschung abgeschlossen, seine chemische Natur blieb jedoch weiterhin

17 *in vitro*: ausserhalb des Körpers

18 Zitate aus Cristeta Brause: «Der Tierversuch in der Diabetes-Forschung – genauer betrachtet!», <http://aerzte-gegen-tierversuche.tierrechte.de/textversion/content/de/infokrankheiten/diabetes.php4>

19 Die Insulinmenge in den Präparaten konnte nicht schnell genug analysiert werden.

20 Durch weitgehend unidentifizierte Substanzen ausgelöster gefährlicher Temperaturanstieg

21 Anaphylaktische Reaktion

unbekannt. Klar war nur, dass es sich um eine schwefelreiche, proteinähnliche, verhältnismässig kleinemolekulare Substanz handelt. Als solche geriet sie in den Brennpunkt des Interesses der Peptidchemiker.

Die Grundlagen der Proteinchemie waren bereits anfangs der 1950er-Jahre recht solid: Man wusste, dass die Proteinmoleküle aus verketteten Aminosäuren bestehen und dass in diesen Ketten zwanzig verschiedene Aminosäuren vorkommen. Ihre Reinigung wurde durch die Einführung der so genannten Verteilungschromatographie Ende der 40er-Jahre durch Archer John Porter Martin (1910–2002) und Richard Laurence Millington Syngé (1914–1994) zu einer Routine. Die beiden Engländer, die für diese Entdeckung den Nobel-Preis für Chemie im Jahre 1952 bekamen, haben die Eigenschaft von Stoffen, sich in wässrigen («polaren») und nichtwässrigen («apolaren») Lösungsmitteln zu lösen, für die Trennungen auf einem Trägermaterial wie Cellulose oder Silicagel benützt. So konnten die Aminosäuren nach der Hydrolyse eines Proteins durch eine einfache Methode, die Papier-Chromatographie, voneinander getrennt und identifiziert werden. Ihre Reihenfolge in einem Protein oder einem Peptid²² konnte jedoch mit dieser Methode nicht bestimmt werden.

Etwa ab Ende des zweiten Weltkriegs haben zwei Forschergruppen zwei solche Peptidhormone untersucht: Hormone der Neurohypophyse – Oxytocin und Vasopressin – im Labor von Vincent du Vigneaud (1901–1978) am Rockefeller-Institut in New York und Insulin in der Gruppe um Frederick Sanger (*1918) an der Universität Cambridge (England). In damals noch sehr umständlichen Verfahren kombinierten sie die bekannten experimentellen Methoden, um die Strukturen dieser Substanzen zu entschlüsseln. Eine dieser Methoden war die Chromatographie auf Papier oder auf Stärke-Kolonnen. Die andere war ein Reinigungsverfahren, das auf dem gleichen physikalischen Prinzip wie die Chromatographie beruhte, jedoch die Trennung und Isolation der Stoffe in einer mehrstufigen Verteilungsprozedur zwischen zwei flüssigen Phasen ermöglichte – die so genannte Gegenstrom-Verteilung. Diese bahnbrechende Methode wurde von Lyman Creighton Craig (1906–1974) um 1950 eingeführt. Und schliesslich synthetisierte Frederick

Sanger eine Substanz, die sich unter alkalischen Bedingungen an die Aminosäure des so genannten N-Endes eines Proteins bindet, also dort, wo eine freie Aminogruppe vorkommt: 1-Fluoro-2,4-Dinitrobenzol, heute als Sanger-Reagenz bekannt. Spaltet man dann das Peptid z.B. mit einer Säure in die einzelnen Aminosäuren auf, bleibt dieses «Marker»-Molekül an die Endaminosäure gebunden und, weil farbig, kann diese im Chromatogramm sofort identifiziert werden. Im Jahr 1954 gelang du Vigneaud auf diese Weise die chemische Entschlüsselung der Struktur der beiden oben genannten Hormone. Ein Jahr später, im Jahr 1955, erhielt er den Nobel-Preis für Chemie – «*for the first synthesis for a polypeptide hormone*», wie die Laudatio des Nobel-Komitees lautete.

Oxytocin und Vasopressin sind eher einfachere Peptide: ihre Moleküle enthalten neun Aminosäuren. Beim Insulin war die Herausforderung an die Chemiker grösser. Es stellte sich nämlich bald heraus, dass das Molekül aus zwei über so genannte Disulfid-Brücken verbundene Peptidketten besteht, die man durch Oxidation leicht voneinander trennen und separat untersuchen kann. Schnell wurde erkannt, dass die kürzere A-Kette (früher Glycin-Kette genannt) aus 21 Aminosäuren besteht, die längere B-Kette (Phenylalanin-Kette) aus 30 Aminosäuren. Dies war der Ausgangspunkt für Frederick Sangers Arbeiten.

Sanger und seine Mitarbeiter haben zuerst die N-terminalen Aminosäuren einer isolierten Kette mit Sanger-Reagenz markiert und sie dann entweder mit Säure oder mit Enzymen (Trypsin, Chymotrypsin, Papain) in kleinere Stücke gespalten. Je nach den Bedingungen der Spaltungsprozedur erhielten sie entweder einzelne Aminosäuren oder kürzere Peptide. Diese wurden dann chromatographisch getrennt und weiter untersucht. Handelte es sich um Aminosäuren, konnten sie bereits durch ihre Position auf dem Chromatographie-Papier bestimmt werden. Die Peptide mussten wieder in die Lösung übertragen und derselben Markierungs- und Spaltungsprozedur unterzogen werden. Am Schluss lag eine grosse Anzahl von partiellen Sequenzen vor, welche die Mosaiksteine einer vollständigen Struktur darstellten. Man suchte deren Überlappungen (damals noch visuell und subjektiv, heute mit Hilfe von Computerprogrammen) und gelangte – mit etwas Glück – zur vollständigen Struktur der beiden Insu-

22 Peptid: Protein mit einer kürzeren Aminosäuren-Kette.

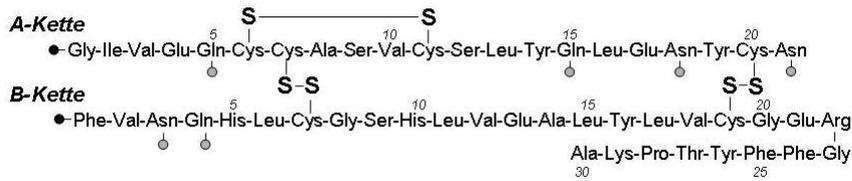


Abb. 3 — Struktur des menschlichen Insulins. Drei-Buchstaben-Symbole bezeichnen einzelne Aminosäuren. Symbole «S-S» zeigen die Schwefelbrücken zwischen zwei schwefelhaltigen Aminosäuren (Cystin). Zwei von ihnen binden die A- und B-Ketten zusammen. Schwarze Kreise stehen für terminale Aminogruppen, graue Kreise für Amidgruppen in den Aminosäuren Asparagin und Glutamin.

linketten. Diese Analyse war eine geniale Idee, verlangte jedoch sehr viel mühsame chemische Arbeit. In seinem Nobel-Vortrag erwähnte Sanger, dass sie in relativ kurzer Zeit nur Dank des bedeutenden Wiener Biochemikers und späteren Professors für Biochemie in Wien, Hans Tuppy (*1924), der anfangs der 1950er-Jahre in Cambridge geforscht hat, beendet werden konnte. Das Resultat dieser Zusammenarbeit, die Struktur der Insulin-B-Kette, waren zwei Publikationen in *The Biochemical Journal* von 1951. Die kürzere A-Kette wurde ein Jahr später im gleichen Journal (F. Sanger mit E.O.P. Thompson) veröffentlicht.

Damit war jedoch die Strukturabklärung noch nicht abgeschlossen. Einige Aminosäuren kommen nämlich in zwei verwandten Formen vor und unterscheiden sich nur durch eine Amidgruppe (Abb. 3, graue Kreise). Diese Amidgruppen gehen bei der sauren Hydrolyse verloren, so dass die zwei Formen²³ nicht unterscheidbar sind. Diese hatte die Cambridge-Gruppe mit einer komplizierten Technik, die aus enzymatischer Spaltung und Trennung der Substanzen gemäss ihrer elektrischen Ladung (durch Elektrophorese) bestimmt. Zur vollständigen Entschlüsselung des Insulins galt es noch die Position der beiden Disulfidbrücken zwischen den Ketten und die eine in der A-Kette zu identifizieren. Die Disulfidbrücken bestehen zwischen zwei Cystein-Molekülen (Cys). Die A-Kette enthält vier Cysteine, die B-Kette zwei. Eine einfache Berechnung ergibt, dass mindestens 72 verschiedene Kombinationen von zwei externen (zwischen den Ketten) und einer internen (inmitten der

A-Kette) vorkommen könnten. Diese Aufgabe wurde von Sanger und seinem Team vor genau fünfzig Jahren, im Jahre 1955, gelöst.

Drei Jahre später erhielt Frederick Sanger, einer der genialsten experimentellen Chemikern unserer Zeit, seinen ersten Nobel-Preis für Chemie.

Heutzutage ist die Bestimmung der Aminosäure-Sequenz in einem Protein in der Regel bedeutend schneller: Peter Victor Edman (1916–1977) entdeckte anfangs der 50er-Jahre die einfache Methode der stufenweisen Abspaltung von N-terminalen Aminosäuren, welche er im Jahre 1967 zusammen mit seinem Techniker Geoffrey S. Begg automatisierte. Die schwierigen Analysen der A- und B-Ketten, die Frederick Sanger und seine zahlreichen Mitarbeiter während jahrelanger Arbeit durchführen mussten, hätten nach dieser Entwicklung wahrscheinlich in wenigen Tagen bis Wochen erfolgen können.

Allerdings werden heute Proteinstrukturen durch die Sequenzbestimmung ihrer entsprechenden Desoxynukleinsäure (DNA) entschlüsselt, denn die Bestimmung der Sequenz von vier DNA-Basen ist um einiges einfacher als diejenige von zwanzig Aminosäuren in Proteinen. Einen grossen Beitrag dazu leistete ebenfalls Frederick Sanger: er arbeitete eine – wieder genial entworfene – DNA-Sequenzierungsmethode aus und erhielt dafür zusammen mit Walter Gilbert (*1932) im Jahre 1980 seinen zweiten Nobel-Preis für Chemie.

Synthetisches Insulin

Mit der Entschlüsselung der Insulin-Struktur kam seine künstliche Herstellung in greifbare Nähe. Auch wenn der mühsame Weg seit Mitte der 1950er-Jahre durch die Synthese der Nonapeptide Vasopressin und Oxytocin geebnet war, stellte die Synthese des wesentlich längeren Insulins eine weitere Herausforderung dar. An diese Aufgabe wagten sich gleich zwei Gruppen: jene von Panayotis G. Katsoyanis (*1924) in Pittsburgh, PA, und jene von Helmut Gustav Zahn (1916–2004) in Aachen. Beide synthetisierten die zwei Insulinketten Anfang der 1960er-Jahre. Sie gewannen nach insgesamt mehr als 220 (!) Synthese-Schritten und nicht gerichteter

23 Es handelt sich um Asparaginsäure - Asparagin und Glutaminsäure - Glutamin

Kombination der beiden Ketten Präparate von Insulin²⁴, die allerdings erst etwa 0,5 bis 1 Prozent «aktives» Insulin enthielten. Das Problem war, dass es sehr viele Möglichkeiten gibt, wie sich die zwei Ketten bei der letzten Oxidationsstufe verbinden können. Wie bereits erwähnt, existieren 72 Kombinationen für die Anbindungen der zwei Ketten bei der letzten Oxidationsstufe. Wahrscheinlich ist aber nur eine davon biologisch aktiv. Auch zwei A-Ketten oder zwei B-Ketten können sich miteinander binden, was weitere 76 Kombinationen (72 für A-, 4 für B-Kette) ergibt. Daneben gibt es noch andere Verkettungsmöglichkeiten, so dass die erwähnte Reinheit der Präparate eigentlich unerwartet hoch war, jedoch für die industrielle Herstellung des Insulins noch viel zu tief. Durch die Wahl der Reaktionsbedingungen konnte in nachfolgenden Jahren die Aktivität der Präparate weiter gesteigert werden, so dass 1966 die Gruppe von Katsoyanis bereits über Aktivitäten von 60–80 Prozent berichten konnte. Aus diesem Produkt konnte das kristalline Insulin gewonnen werden.

Zwei weitere Innovationen ermöglichten dann eine noch effizientere Insulin-Synthese. Die eine beruhte auf der Idee, die Disulfidbrücken gezielt zu schliessen und dabei die beiden Ketten gleichzeitig – also nicht getrennt wie früher – aufzubauen. So kam es 1974 mit der Totalsynthese des menschlichen Insulins durch Basler Chemiker der Ciba-Geigy AG (Albert Hartmann, Albert Jöhl, Bruno Kamber, Werner Rittel, Bernhard Riniker, Peter Sieber) zum ersten Mal zu praktisch reinem Insulin²⁵. Der andere Fortschritt kam mit der Einführung der automatisierten Peptidsynthese auf einem festen Träger – einem Kunstharz. Dieser ermöglichte einen kontinuierlichen Aufbau der Peptidkette ohne mühsame Zwischenstufen zur Reini-

- 24 Der aktive Stoff der Präparate entsprach einerseits dem Schafinsulin, andererseits dem Humaninsulin.
25 Dadurch wurde eine Diskussion über die therapeutische Nützlichkeit des menschlichen Insulins ausgelöst. Das menschliche Insulin war aktiver als die bisher benutzten Präparate eines tierischen Insulins, was bei der Selbstverabreichung bei Diabetikern am Anfang Probleme zur Folge hatte. Es wurde auch über Probleme beim Wechsel vom Schweine- zu Humaninsulin berichtet. Dafür aber war die Gefahr einer – bei Patienten allerdings sehr seltenen – Immunreaktion auf ein «nicht-humanes» Insulin, das für Menschen eigentlich einen Fremdstoff darstellt, unterbunden.

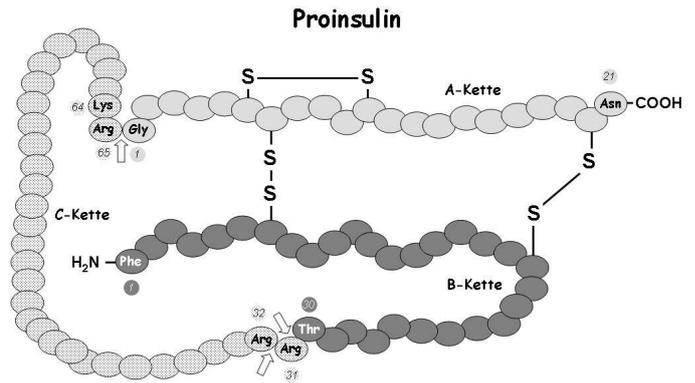


Abb. 4 — Schematische Darstellung des Insulin-Präkursors Proinsulin. Nur für die Aktivierung zum Insulin wichtige Aminosäuren sind gekennzeichnet, andere durch Ovale ersetzt. Details siehe Abb. 3. Pfeile zeigen die Stellen, wo das Proinsulin zu Insulin gespalten wird.

gung des jeweiligen Produktes. Ihre Grundlage wurde von Robert Bruce Merrifield (*1921) in den 1960er-Jahren entwickelt und 1966 von ihm und A. Marglin zur Synthese des Rinder-Insulins benützt. Dies verkürzte die Synthese auch von grossmolekularen Peptiden drastisch und wurde durch die Verleihung des Nobel-Preises für Chemie 1984 an Merrifield entsprechend gewürdigt.

Prinzipiell war jetzt die industrielle Herstellung des reinen menschlichen Insulins möglich. Doch die Produktion war teuer und anspruchsvoll. Ciba-Geigy produzierte deshalb nur kleine Mengen davon. Der Durchbruch kam mit der Anwendung von gentechnologischen Methoden in der Pharmaindustrie.

Gentechnologie für die Produktion von Insulin

Die Produktion von Insulin aus tierischen Quellen zeigte bereits Mitte der 1970-Jahre mengenmässige Engpässe. Für eine zehntägige Behandlung eines Patienten mit dem therapeutisch günstigsten Schweineinsulin braucht man das Pankreas eines Schlachttiers. Während man die Zahl der geschlachteten Tiere pro Jahr nicht beliebig steigern konnte, nahm die Zahl der Diabetiker ständig zu. Die aus Mikroorganismen mit gentechnischen Methoden hergestellten Pharmazeutika brachten deshalb nicht nur rein technische Vorteile, sondern ermöglichten auch die Überwindung von produktionstechnischen Engpässen.

Grundsätzlich sind zwei Produktionswege möglich:

1. Die bakterielle Synthese einzelner Insulin-Ketten und ihre nachträgliche Verbindung durch Oxidation, wie es in den ersten synthetischen Versuchen gemacht wurde.
2. Die Biosynthese eines Insulin-Präkursors, des so genannten Proinsulins (Abb. 4).

Der erste Weg hat dieselben Nachteile wie die klassische chemische Synthese, ist jedoch einfacher und wurde deshalb für die ersten Versuche gewählt. Der zweite war jedoch bedeutend viel versprechender. Zu Beginn der 60er-Jahre stellte Donald F. Steiner (*1930) in New York fest, dass das Insulin in den Langerhans-Zellen zuerst als längeres Protein (Proinsulin) synthetisiert, dann aber in den gleichen Zellen zum aktiven Insulin gespalten wird. Neben dem Insulin spaltet sich aus diesem Insulin-Präkursor noch das so genannte C-Peptid (mit 33 Aminosäuren), das im Proinsulin die beiden Ketten verbindet. Beide Ketten entstehen also als ein einziges Genprodukt. Es wird vermutet, dass das lange Molekül des Proinsulins eine für die Schließung der «richtigen» Disulfidbrücken günstige räumliche Struktur annimmt. Die rekombinante DNA, die bei der gentechnischen Synthese in die produzierenden Bakterien, meistens *Escherichia coli*, eingeschleust wird, kodiert das Proinsulin. Nach seiner gentechnischen Synthese wird es dann – ähnlich wie in der Zelle – durch enzymatische Spaltung mit Enzymen Trypsin und Carboxypeptidase B zum aktiven Insulin umgewandelt.

Die kalifornische Firma Genentech stellte als Erste im Jahre 1978 gentechnisch erzeugtes Insulin her. Genentech produzierte die beiden Insulin-Ketten separat in zwei Kulturen des Bakteriums *Escherichia coli*. Insulin entsteht dann nach oxidativer Kopplung der Schwefelbrücken. Fast gleichzeitig nahm auch Eli Lilly, welche eine lange Erfahrung in der Herstellung von Insulin aus tierischen Quellen hatte, die gentechnische Produktion nach ähnlichem Konzept auf. Eine etwas modifizierte Produktionsmethode hat die Frankfurter Firma Aventis (vormals Hoechst) gewählt: sie benützt ein Genkonstrukt, das in einem Aufbauschnitt beide Ketten, gebunden in einem längeren, von Proinsulin unterschiedlichen Protein herstellt. Dieses wird dann enzymatisch in einzelne Ketten gespalten und diese werden ähnlich wie oben gekoppelt.

Den zweiten Weg hat die skandinavische Firma Novo Nordisk gewählt. Die rekombinante DNA enthält die Basensequenz eines Präkursors, der etwas einfacher ist als das erwähnte, «natürliche» Proinsulin. Nach seiner Synthese und Freisetzung ins Kulturmedium wird er, ähnlich wie das Proinsulin in der Zelle, durch enzymatische Spaltung ins aktive Insulin umgewandelt. Mit chromatographischen Trennmethoden²⁶ wird dann das reine Produkt isoliert.

26 Besonders mit HPLC – «high pressure liquid chromatography»

Tab. 1 — Substanzen und Präparate

Substanz	Struktur**	therapeutische Charakteristik	Produzent, Präparat	Produktionslinie****
Humaninsulin (normal)				<i>E. coli</i> <i>S. cerevisiae</i>
HPN-Humaninsulin (neutrales protamin-verzögertes Insulin Hagedorn)*	Protamin-gebundenes Insulin***	langwirkend, mischbar mit normalem Insulin	Eli Lilly, Aventis, Novo Nordisk, Berlin-Chemie, B. Braun/ratiopharm	<i>E. coli</i> <i>S. cerevisiae</i>
Insulin Lispro	Pro(B28)Lys; Lys(B29)Arg	schnell verfügbar, schneller Einsatz des Effekts	Eli Lilly («Humalog 100», «Liprog»)	<i>E. coli</i>
Insulin Aspart	Asp(B28)Pro	schnell wirkend	Novo Nordisk	<i>S. cerevisiae</i>
Insulin Glargine	Asn(A21)Gly; Arg(B31); Arg(B32)	langwirkend	Aventis («Lantus»)	<i>E. coli</i>

* Das Verzögerungsprinzip (Bindung an Protamin) wurde von W. Hagedorn entwickelt.

** «Pro(B28)Lys» bedeutet z.B., dass die 28. Aminosäure Prolin der B-Kette des menschlichen Insulins durch die Aminosäure Lysin ersetzt wurde. «Arg(B31)»: Arginin wurde der B-Kette als 31. Aminosäure zugefügt.

*** Protamine: einfache basische Proteine aus Fischsperma.

**** Für die Produktion benützte Mikroorganismen: Darmbakterium *Escherichia coli* und Bierhefe *Saccharomyces cerevisiae*.

Diese und mehrere andere gentechnisch hergestellte Insulinpräparate werden jetzt weltweit mehrheitlich verwendet. In Europa werden tierische Insulin-Arzneimittel nur an etwa 10 Prozent der Patienten verschrieben. Die Engpässe in der Produktion sind durch die Einführung der Gentechnologie also weitgehend behoben. Sie hat noch einen weiteren Vorteil: weil sie fast keine oder keine aggressiven Chemikalien benutzt, ist sie wesentlich umweltschonender als die früheren Synthesemethoden.

Insulin-Derivate für die Therapie

Die Kenntnis der Insulin-Struktur eröffnete auch die Möglichkeit ihrer gezielten Modifizierung. Damit konnten einerseits stärker wirkende Insulin-Derivate synthetisiert werden, besonders aber auch solche, die einen modifizierten Zeitverlauf des Insulin-Effekts ermöglichen. Je nach Umständen und Patientenzustand werden sowohl schnell und intensiv, als auch lang wirkende Effekte in der Ersatztherapie benötigt. Methoden zur chemischen Abänderung eines Peptidmoleküls sind seit den 50er-Jahren bekannt und ermöglichen die Untersuchungen der Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischen Wirkungen von Substanzen. Für die industrielle Produktion sind sie jedoch weniger effizient und erst die Gentechnologie stellte therapeutisch günstige Peptide zur Verfügung. Einige von ihnen zeigt *Tab. 1*.

Eine Verlängerung des Insulin-Effekts wird durch Kopplung von Insulin an das basische Eiweiß Protamin aus Lachsperma erreicht. Aus dieser Verbindung setzt sich Insulin nur langsam frei. Das Prinzip ist nicht neu, ermöglicht jedoch durch die Kombination des «normalen» nicht gebundenen Insulins eine gute Kontrolle der Stärke und Dauer seiner Wirkung. Auf einem anderen Prinzip wird die verzögerte Wirkung beim Aventis-Medikament «Lantus» (Glargine-Insulin) erzielt: Durch die Erweiterung der B-Kette um zwei basische Arginin-Moleküle in den Positionen 31 und 32 wird das Molekül weniger löslich und zu einem Protein-Depot nach einer intramuskulären Injektion umgewandelt, von dem die aktive Substanz nur langsam freigesetzt wird. Es ist aber nicht immer zweckdienlich, den hypoglykämischen Effekt des Insulins zu verlängern: unter physiologischen Bedingungen steigt der Blutspiegel des Insulins in der sog. postprandialen Phase (nach der Einnahme des Essens). Da werden eher die schnell

aktivierbaren Insulin-Analoga verlangt, von denen auch einige auf dem Markt vorhanden sind: Lispro-Insulin des Pharmaunternehmens Eli Lilly, bei dem die zwei vorletzten Aminosäuren der B-Kette, Prolin und Lysin, in ihrer Position vertauscht werden, und «Novo-Rapid» (Aspart-Insulin) von Novo Nordisk, das anstelle von Prolin in der Position 29 der B-Kette eine saure Aminosäure (Asparaginsäure) enthält.

Der Facharzt hat also zahlreiche Möglichkeiten, eine optimale Substitutionstherapie für jeden individuellen Patienten zu gestalten. Die Möglichkeiten sind damit nicht erschöpft. Eine weitere Bestrebung geht in die Richtung einer kontrollierten Abgabe des Insulins, die auf dem aktuellen, mit einem «Glucose Chip» laufend analysierten Glukose-Blutspiegel beruht. Mit den bereits entwickelten Minipumpen, die an den Körper des Patienten befestigt werden, ohne ihn wesentlich zu belasten, kann man diesem Wunsch schon heute nachkommen.

Eine Schlussbemerkung

Somit ist die Forschung um Insulin und Diabetes, die vor achtzig Jahren fast dramatische Züge und vor fünfzig Jahren einen brillanten Erfolg aufwies, zu einer Erfolgsgeschichte der Medizin geworden. Dies trotz menschlichen Reibungen zwischen den beteiligten Wissenschaftlern, methodischen und anderen Fehlern, die eigentlich fast jeden wissenschaftlichen Fortschritt begleiten.

Literatur

- Michael Bliss: «The Discovery of Insulin». Paul Harris Publishing, Edinburgh 1983. (*Auf zugänglichen Dokumenten und Zeugnisaussagen gestützte historische Studie, die in ziemlich grosse, jedoch sehr interessante Details geht*).
- Lawrence M. Crapo: «Hormone. Die chemischen Boten des Körpers», S. 113 («Eine Therapie aus Toronto»). Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH & Co., Heidelberg 1986.
- Theodor Wieland & Miklos Bodanszky: «The World of Peptides». Springer-Verlag, Berlin 1991. (*Geschichte der modernen Peptidforschung mit detaillierten Angaben und Referenzen zu Insulin und Chemie*).

Wichtige Persönlichkeiten



J. B. Collip, C. H. Best, (Mrs. F. N. G. Starr) und F. G. Banting, um 1936

Frederick Grant Banting ist ein kaum umstrittener Hauptakteur der Insulin-Geschichte. Er schloss das Medizinstudium an der Universität Toronto ab; sein Hauptlehrer Clarence L. Starr (1868–1928) hielt ihn für einen guten Arzt, jedoch nicht für einen Forscher. Seine kurz dauernde Arztpraxis in London, Ontario, war alles andere als prosperierend. Nach der Auszeichnung mit dem Nobel-Preis gründete die Universität Toronto das «Banting and Best Department of Medical Research», wo er den Rest seines Lebens unspektakuläre Krebs-Forschung betrieb. In den beiden Weltkriegen war er in Sanitätstruppen der kanadischen Armee aktiv. Im Ersten Weltkrieg wurde er schwer verwundet und verlor fast eine Hand. Im Zweiten Weltkrieg hatte er sich selbst zum Dienst gemeldet und wollte als gewöhnlicher Sanitätsoffizier dienen (er war bereits im Ersten Weltkrieg zum Hauptmann befördert worden), wurde jedoch dazu überredet, die Funktion eines Chefkoordinators der medizinischen Kriegsforschung zu übernehmen. In dieser Funktion unternahm er zwei Reisen nach England. Bei der zweiten Reise von Gander, New Foundland, hatte das Militärflugzeug aus bis jetzt ungeklärten Gründen noch innerhalb des kanadischen Luftraums eine Havarie und Banting kam am 20. Februar 1941, noch nicht fünfzig Jahre alt, ums Leben.

Charles Herbert Best hatte die akademische Karriere bis Ende seines Lebens fortgesetzt. Er belegte leitende

Posten in hoch reputativen kanadischen Institutionen und hatte mit seinen zahlreichen Mitarbeitern auch an interessanten Projekten gearbeitet, unter anderem an der Entwicklung eines anderen wichtigen Medikaments, des Heparins (zusammen mit Connaught Laboratories in Toronto).

James Bertram Collip siedelte Ende 1928 von Alberta nach Montreal um und war Vorsteher des Biochemischen Institutes an der englischsprachigen McGill Universität. Während seiner Tätigkeit an diesem Institut wurde er an wichtigen endokrinologischen Studien (Parathormon, ACTH) beteiligt. Er war in seiner Zeit eine dominierende Persönlichkeit der kanadischen Endokrinologie-Forschung.

Paul Langerhans hatte sich 1871, kurz nach seiner berühmten Dissertation, an der Universität Jena für pathologische Anatomie bei den Professoren Heinrich Adolf von Bardeleben und Rudolf Virchow habilitiert und war dann für kurze Zeit Dozent und Professor an der Universität Freiburg in Breisgau. Er wurde für einen talentierten, verheissungsvollen Forscher angesehen. Wegen seiner Tuberkulose-Erkrankung hatte er jedoch die Stelle bereits in 1874 verlassen und liess sich, nach mehreren Kuren, in Funchal an Madeira nieder. Er starb an einer Nierenerkrankung im Jahre 1888. In den letzten Jahren seines Lebens widmete er sich, neben seiner Arztpraxis, der Meeresbiologie.



F. Sanger, 1980



J. J. R. Macleod, 1923

John James Rickard (Richard) Macleod wurde 1918 zum Professor für Physiologie an der Universität Toronto gewählt. Im Jahre 1928 trat er zurück und kehrte in sein Heimatland Schottland als hochgeschätzter Professor zurück, wo er sie-

ben Jahre später starb. Bantings fast unhöflich und stures Verhalten gegen ihn war sicher an dieser Wende mitschuldig. Sein Nachfolger auf dem Lehrstuhl für Physiologie in Toronto war Charles Herbert Best!

Oskar (Oscar) Minkowski,

Professor an der Universität Breslau, war der Bruder des bekannten Mathematikers und ETH-Professors Hermann Minkowski.

Hans Tuppy war 1963–1994 Professor für Biochemie an der Medizinischen Fakultät der Universität Wien. In den Jahren 1987–1989 war er Bundesminister für Wissenschaft und Forschung in der Regierung von Bundeskanzler F. Vranitzky. Neben der Arbeit an Insulin gehört zu seinen besonderen Leistungen auch die Bestimmung der Struktur des Hormons Oxytocins im gleichen Jahr wie V. du Vigneaud.

Georg Ludwig Zuelzer, Berliner Arzt jüdischer Abstammung, emigrierte im Jahr 1934 in die USA. In Fachkreisen seiner Heimatstadt hatte er kaum Anerkennung für seine Arbeit getroffen und war eher als «Outsider» in der Medizin betrachtet. Bis an sein Lebensende bestand er auf seiner Priorität für die Entdeckung des Insulins. Er starb in einem New Yorker Altersheim, wahrscheinlich im Jahr 1952. Sein Sterbejahr wird allerdings meistens mit 1949 angegeben.

Mitgliedschaft beim Verein «Forschung für Leben»

- Ich werde gerne **Mitglied** des Vereins
«Forschung für Leben».
Mitgliederbeitrag jährlich: CHF 50.–
- Ich/wir werde(n) gerne **Gönner** des Vereins
«Forschung für Leben».
Gönnerbeitrag jährlich: CHF 500.–

Name:

Vorname:

Adresse:

PLZ / Ort:

Telefon:

E-Mail:

Bitte einsenden an:

«Forschung für Leben», Postfach 876, 8034 Zürich

Fax: 044 365 30 80, Mail: contact@forschung-leben.ch