

## DISTRIBUCION ANORMAL DE LA INSULINA E INHIBIDOR- $\alpha_2$ EN LAS FRACCIONES PROTEICAS DEL PLASMA DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS \*

Abnormal distribution of insulin and  $\alpha_2$  - inhibitor in the plasma protein fractions of diabetic patients.

LUIS VARGAS y MARCELO CHARLÍN

*Departamento de Fisiopatología, Escuela de Medicina, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.*

Recibido para publicación el 1º de Marzo de 1965.

### RESUMEN

Se estudió la distribución de la insulina y del inhibidor- $\alpha_2$  en las fracciones proteicas del plasma de 11 diabéticos, 7 de los cuales eran del tipo de diabetes juvenil y entre éstos 3 estaban en coma acidótico. De los 4 casos restantes, 1 tenía diabetes maligna terminal con graves complicaciones vasculares, 2 eran diabetes del adulto y uno padecía de diabetes esteroidea iatrogénica.

El hecho más constante fue que el inhibidor- $\alpha_2$  estaba disminuido o ausente en todos los casos, menos en el de diabetes maligna. La ausencia del inhibidor- $\alpha_2$  en 3 pacientes diabéticos que se encontraban en coma acidótico, demuestra que el inhibidor- $\alpha_2$  es diferente del antagonista- $\alpha_1$  de Field.

La insulina mostró la anormalidad de migrar con las globulinas- $\alpha_2$  y  $\beta_1$  en lugar de hacerlo en la albúmina y  $\alpha_1$ , hecho que no ha sido observado en otros casos patológicos y que podría caracterizar un trastorno plasmático de la insulina propio de la diabetes.

### INTRODUCCIÓN

En trabajos anteriores (1, 2) hemos mostrado que la Fracción proteica IV-VI de Lever *et al.* (3) contiene insulina y un inhibidor de la captación de glucosa del hemidiafragma de la rata. Separados sus componentes por electroforesis continua sobre columna de celulosa o cortina de papel, la insulina se encuentra exclusivamente en la albúmina y en la globulina  $\alpha_1$ , y el inhibidor, en las globulinas  $\alpha_2$  y  $\beta_1$  (inhibidor- $\alpha_2$ ). Como esta Fracción IV-VI a pesar de ser una mezcla de los 2 componentes con acción opuesta, manifiesta leve efecto inhibidor (en lugar de insulínico), es posible concluir que en el estado natural del plasma existe cierto antagonismo entre insulina endógena e inhibidor- $\alpha_2$  (4). No ha sido posible, sin embargo, reproducir este antagonismo en experimentos "in vitro" (5). Por la forma co-

mo se encuentra el material insulina-inhibidor, se puede aceptar la existencia de un equilibrio entre insulina e inhibidor- $\alpha_2$ , que hemos estudiado en sujetos adultos normales y en pacientes con hiper o hipoglucemias de diferentes orígenes endocrinos (6). Comunicamos aquí los resultados obtenidos en estudios análogos practicados en un grupo de pacientes de diabetes mellitus.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de sangre venosa se extrajeron en la forma ya descrita (1) en pacientes sin ayuno previo. El plasma fue fraccionado de acuerdo con la técnica de Lever *et al.* (3), dializado y liofilizado, obteniéndose las 2 fracciones proteicas llamadas I-II-III y IV-V-VI. En 4 pacientes sólo se estudió la actividad biológica de estas dos fracciones (Tabla 1). En otros 7 pacientes se separaron los componentes proteicos de la Fracción IV-VI mediante electroforesis continua sobre cortina de papel y solución amortiguadora de barbitol sódico (2). Se determinó la actividad insulínica e inhibitoria de las fracciones proteicas y de sus componentes, mediante la cap-

\* Trabajo realizado con la ayuda de la Organización Mundial de la Salud (Grant Nº R/00051).

tación neta de glucosa del hemidiafragma de rata (1, 2).

Las características de los pacientes se resumen en las tablas correspondientes.

#### RESULTADOS

Los datos que aparecen consignados en la Tabla I acerca de los resultados obtenidos por la adición de las Fracciones I-II-III y IV-V-VI de Lever *et al.* muestran que no se encontró el inhibidor- $\alpha_2$  en 3 de los 4 casos diabéticos y que en 2 se hallaba significativamente aumentada la actividad insulínica de la Fracción I-III. En uno de ellos se observó aún actividad insulínica en la Fracción IV-VI, que ordinariamente produce inhibición de la captación de glucosa del hemidiafragma de la rata.

La misma tendencia se observó en los componentes proteicos de la Fracción IV-VI (Tabla II). Así, en 6 de los 7 casos estudiados, no se encontró el inhibidor- $\alpha_2$  y en 3 casos se observó actividad insulínica anormal en la globulina  $\alpha_2$  y  $\beta_1$ . Esta actividad insulínica mostró niveles excepcionalmente altos en un caso de diabetes infantil tratada con dosis altas de insulina. Llama la atención que en 5 casos de los 7, la albúmina y la globulina- $\alpha_1$  no exhibieron la actividad insulínica como es lo habitual.

#### DISCUSIÓN

Con la técnica empleada por nosotros, la ubicación de la insulina y del inhibidor  $\alpha_2$  en el plasma de los pacientes diabéticos ha sido en las globulinas  $\alpha_2$  y  $\beta_1$ , en lugar de la albúmina y globulina- $\alpha_1$  como sucede en los individuos normales (Tabla III).

Esta ubicación se ha observado en los diferentes tipos de diabetes tratados o no con insulina y ha estado presente tanto en los que han recibido insulina cristalina o mezcla de insulina y protamina-zinc-insulina.

Los resultados obtenidos en los testigos normales (1, 2), fueron concordantes con los comunicados por otros autores utilizando el hemidiafragma, ya que la mayoría sostiene que la insulina migra con la globulina- $\alpha_1$  (8); pero difieren para los individuos diabéticos, porque aquí el consenso de opinión ha sido que la insulina se ubica en la globulina  $\gamma$ . Sin embargo Berson (9) encontró que la insulina- $I^{131}$  adicionada al plasma de 11 pacientes diabéticos, se ubicaba preferentemente en la Fracción I+III de Lever *et al.* (que no contiene globulina  $\gamma$ ). Nos parece que los resultados de los diversos autores no son comparables y que el comportamiento de la insulina no es constante, debido a que

TABLA I

Captación neta de glucosa del hemidiafragma de rata \* (mg de glucosa por gramo de diafragma húmedo y hora) \*\* en presencia de las fracciones proteicas de Lever *et al.*

Caso N°	Diagnóstico	Fracción I-II-III Captación neta	Fracción IV-V-VI Captación neta
1	Diabetes juvenil benigna (adulto) ***	+ 0,66 ± 0,14	+ 0,19 ± 0,17
2	Diabetes esteroidea iatrogénica	+ 0,30 ± 0,30	+ 0,20 ± 0,26
3	Diabetes maligna ***	+ 2,28 ± 0,27	— 0,79 ± 0,28
4	Coma acidótico grave (adulto con diabetes tipo juvenil) *	+ 3,19 ± 0,16	+ 1,50 ± 0,36
	Normales 6 casos ****	+ 1,30 ± 0,25	— 0,7 ± 0,39

\* Diferencia entre captación básica del testigo y captación del grupo experimental.

\*\* Las cifras corresponden al promedio de 6 hemidiafragmas ± su error típico.

\*\*\* Muestras de sangre obtenidas durante el tratamiento con insulina. Los casos 1 y 4 estaban tratados con insulina cristalina y el caso 3, con protamina-zinc-insulina.

\*\*\*\* Datos tomados de Vargas, Taylor y Randle (1).

TABLA II

Captación neta de glucosa del hemidiafragma de rata \* (mg de glucosa por gramo de diafragma húmedo y hora) \*\* en presencia de subfracciones proteicas de la Fracción IV-V-VI de Lever et al.

Caso Nº	Diagnóstico	Albúmina + $\alpha_1$ Captación neta	Globulina $\alpha_2 + \beta_1$ Captación neta
5	Diabetes benigna tipo juvenil, en adulto sin retinopatía ****	+ 0,98 $\pm$ 0,24	- 0,76 $\pm$ 0,20
6	Diabetes del adulto post-coma acidótico, sin retinopatía ***	- 0,25 $\pm$ 0,26	0
7	Diabetes infantil- inestable ***	+ 0,15 $\pm$ 0,41	0
8	Coma acidótico grave en diabetes tipo juvenil del adulto	+ 0,14 $\pm$ 0,17	0
9	Diabetes infantil en coma acidótico, suave	+ 0,38 $\pm$ 0,18	+ 1,11 $\pm$ 0,12
10	Diabetes infantil ***	+ 0,26 $\pm$ 0,16	+ 3,54 $\pm$ 0,30
11	Diabetes y obesidad en anciana sin retinopatía	+ 1,47 $\pm$ 0,22	+ 2,05 $\pm$ 0,14
	Normales 3 casos ****	+ 1,20 $\pm$ 0,27	- 1,70 $\pm$ 0,21

\* Diferencia entre captación básica del testigo y captación del grupo experimental.

\*\* Las cifras corresponden al promedio de 6 hemidiafragmas  $\pm$  su error típico.

\*\*\* Muestras de sangre obtenidas durante el tratamiento con insulina. Los casos 5 y 7 estaban tratados con mezcla de protamina-zinc-insulina cristalina; el caso 6, con insulina cristalina y el caso 10, con protamina-zinc-insulina.

\*\*\*\* Datos tomados de Vargas, Taylor y Randle (1).

está influenciado por los elementos técnicos en juego.

Es de interés señalar que en ninguno de los 3 casos de coma diabético se encontró actividad inhibitoria. Field *et al.* (7), hallaron en el plasma de estos pacientes un factor antagonista de la insulina, que localizaron en un solo caso en la globulina- $\alpha_1$ . Era de importancia precisar si el

inhibidor- $\alpha_2$  sería el mismo factor descrito por Field. La ausencia del inhibidor- $\alpha_2$  en los casos en estado de coma acidótico muestra que el inhibidor- $\alpha_2$  es diferente del antagonista de Field.

Los resultados obtenidos en la diabetes infantil nos han estimulado a extender este estudio a los hijos aparentemente normales de padre o madre diabéticos (ni-

TABLA III

Resumen de la actividad insulínica e inhibitoria de los componentes proteicos de la Fracción IV-V-VI

	Actividad insulínica			Actividad inhibitoria		
	Albúmina + $\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta_1$	Albúmina + $\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta_1$
Normal	+++	0	0	0	+++	++
Diabético	0	+++	++	0	0	0

ños prediabéticos). Los estudios hasta ahora realizados, que serán motivo de otra comunicación, muestran que en ellos existe la misma distribución anómala de la insulina y del inhibidor- $\alpha_2$  plasmáticos, lo que sugiere una posible implicación genética en la caracterización de esta anormalidad bioquímica de la diabetes.

#### SUMMARY

The distribution of insulin and  $\alpha_2$ -inhibitor of the plasma protein fractions from 11 diabetic patients was studied. Seven patients were of the juvenile type of diabetes and three of them were in diabetic coma. The remaining four cases were a malignant diabetes with severe vascular complications, two diabetes of the adult type and a iatrogenic steroid diabetes.

The most common feature was the low level or even absence of the  $\alpha_2$ -inhibitor which occurred in all cases with the exception of the malignant diabetes. The absence of  $\alpha_2$ -inhibitor in three patients in diabetic acidosis, speaks against a similarity between the  $\alpha_2$ -inhibitor and the insulin antagonist- $\alpha_1$  of Field.

Other interesting fact was the abnormal distribution of the insulin in the  $\alpha_2$

and  $\beta_1$  globulin instead of the albumin- $\alpha_1$ , phenomenon which has not been observed in other pathologic cases and could be a characteristic of the diabetic disturbance.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la valiosa colaboración prestada en el estudio de algunos casos, a los Dres. Antonio Arteaga, del Hospital Clínico de la Universidad Católica de Chile y Alberto Galofré, del Hospital de Niños Roberto del Río de Santiago.

#### REFERENCIAS

- 1.— VARGAS, L., TAYLOR, K. W. y RANDLE, P. J. — *Biochem. J.* **77**:43, 1960.
- 2.— CHARLÍN, M. y VARGAS, L. — *Acta physiol. lat.-amer.* **14**:154, 1964.
- 3.— LEVER, W. F., GURD, F. R. N., UROMA, E., BROWN, R. K., BARNES, B. A., SCHMID, K. y SCHULTZ, E. L. — *J. Clin. Invest.* **30**:99, 1951.
- 4.— BERSON, S. A. — *Diabetes* **13**:247, 1963.
- 5.— VARGAS, L. y CHARLÍN, M. — *Arch. Biol. Med. Exper.* **2**:22, 1965.
- 6.— VARGAS, L. y CHARLÍN, M. — *Arch. Biol. Med. Exper.* **1**:242, 1964.
- 7.— FIELD, J. B. y STETTEN, D. — *Am. J. Med.* **21**:339, 1956.
- 8.— PROUT, T. E., ODAK, V. V. y DENDRINOS, G. J. — *Diabetes* **12**:144, 1963.
- 9.— BERSON, S. A. y YALOW, R. S. — *J. Clin. Invest.* **36**:642, 1957.