

Papel de la insulina y hormonas de contra-regulación en las alteraciones metabólicas por privación de insulina en pacientes diabéticos

M. J. Castillo*, A. J. Scheen, P. Gualda y P. J. Lefebvre

División de Diabetes
Nutrición y Enfermedades Metabólicas
Instituto de Medicina
Universidad de Lieja
Lieja (Bélgica)

(Recibido el 19 de abril de 1988)

M. J. CASTILLO, A. J. SCHEEN, P. GUALDA and P. J. LEFEBVRE. *Role of Insulin and Counter-Regulatory Hormones on the Metabolic Deterioration that Follows Insulin Withdrawal in Diabetic Patients*. Rev. esp. Fisiol., 45 (1), 53-60, 1989.

In eight insulin dependent diabetic patients treated by continuous subcutaneous insulin infusion (1.1 ± 0.2 U/h), the levels (measured hourly from 23 h to 05 h) of blood glucose, non esterified fatty acids (NEFA), glycerol and 3-OH-butyrate (3-OH-B) have been correlated to the circulating levels of free insulin (FIRI), glucagon, growth hormone or cortisol, in two experimental conditions: A. Insulin being infused as usual (physiological FIRI levels) and B. Progressively declining FIRI levels (insulin infusion arrested at 23 h). In condition A, blood glucose levels correlated significantly to both insulin and glucagon; NEFA, glycerol and 3OH-B correlated only to insulin. In condition B, blood glucose was significantly correlated to insulin but not to glucagon while NEFA, glycerol and 3-OH-B were significantly correlated to both hormones but not to growth hormone or cortisol. Therefore, on the metabolic deterioration that follows insulin withdrawal, growth hormone and cortisol seem to play a minor role, the main role being played by the decrease in circulating insulin levels and to a lesser extent by the increase in glucagon levels.

Key words: Insulin, Glucagon, Growth hormone, Cortisol, Diabetes.

La carencia de insulina, independientemente del mecanismo por el que se produzca, conduce a hiperglucemia y a un incremento de la lipólisis y cetogénesis que puede ser atribuido tanto a la disminución

de los niveles circulantes de insulina como al incremento de hormonas contra-reguladoras (glucagón, catecolaminas, cortisol, HGH) (12). De hecho, en la cetoacidosis diabética, los niveles plasmáticos de estas hormonas están elevados (19), y la respuesta hiperglucémica y cetonémica a las mismas parece estar incrementada en los pacientes diabéticos (23). Sin embargo, la

* Correspondencia a M. J. Castillo: Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. 18071 Granada (España)

importancia relativa tanto individual como colectiva de esos factores de contra-regulación en la patogénesis de la hiperglucemia de estrés y de la cetoacidosis diabética, no está completamente clarificada (6). Así, diversos estudios (1, 6, 10, 22) sugieren que para el desarrollo y mantenimiento de la cetoacidosis diabética se requiere tanto un déficit de insulina como una elevación de al menos algunas hormonas contra-reguladoras.

En los pacientes diabéticos insulino-dependientes tratados por un sistema de infusión continua subcutánea de insulina, la interrupción de esa infusión se acompaña de una importante degradación metabólica, con hiperglucemia, lipólisis y cetogénesis (11), en la que intervendría de un lado la disminución de los niveles de insulina circulante y de otro la previsible elevación de las hormonas contra-reguladoras. Esta situación constituye por tanto un medio idóneo para estudiar la contribución relativa de insulina y hormonas contra-reguladoras en la degradación metabólica que sigue al déficit de insulina en ausencia de factores intercurrentes que condicionen una situación de estrés para el individuo.

El objeto de este trabajo es precisamente describir el grado de correlación existente entre los niveles de insulina, glucagón, cortisol y hormona de crecimiento, de un lado, y los niveles de los principales factores metabólicos implicados, de otro (glucemia, ácidos grasos no esterificados, 3-OH-butirato [3-OH-B] y glicerol) tanto en una situación en donde se mantienen estables los niveles de insulina circulante, como en la que esos niveles sufren una progresiva disminución.

Material y Métodos

Sujetos. — Se han estudiado ocho pacientes diabéticos insulino-dependiente estrictos y sin secreción residual de insulina apreciable (péptido C negativos). To-

dos se prestaron voluntariamente a la realización del estudio una vez que fueron informados detalladamente de las pruebas a realizar. Estos pacientes, cuyas principales características clínicas se presentan en la tabla I, se trataban, desde hacía meses, por un sistema de infusión continua de insulina que infundía s.c. una dosis media de insulina cristalina de $1,1 \pm 0,2$ U/h, y antes de las comidas el propio paciente practicaba suplementos en la dosis con arreglo a su glucemia y a un esquema de dosificación preestablecido.

Protocolo experimental. — En cada sujeto se hicieron dos pruebas en orden aleatorio y en el transcurso de dos noches diferentes separadas por varios días de intervalo. Estas pruebas comenzaban a las 22 h (6 horas después de la última comida) con la instalación de un catéter flexible en una vena antecubital, el cual se mantenía permeable mediante la infusión lenta de solución fisiológica y por el que se realizaban extracciones de sangre cada hora, desde las 23 hasta las 05 h. En una de las pruebas se mantenía la infusión s.c. de insulina; en la otra se detenía a las 23 h, no reanudándose hasta 6 horas después (05 h de la mañana). Las muestras de sangre se recogían en tubos helados que contenían EDTA y Trasytol —Bayer— (o fluoruro oxalato, para la glucemia), siendo inmediatamente centrifugadas y alicuotado el plasma, que se congelaba a -20 °C hasta el momento del análisis.

Procedimientos analíticos. — La glucemia se midió por el método de la hexoquinasa adaptado a un autoanalizador Technicon, los ácidos grasos no esterificados (FFA) se midieron por el método de DOLE y MEINERTZ (8), el 3-OH-butirato y el glicerol por métodos enzimáticos colorimétricos (9), el glucagón plasmático según LUYCKX (13), la hormona de crecimiento se midió mediante kit comercial (CIS International, Sorin, Italia) y el cortisol plasmático según SULON *et al.* (24). Los niveles de insulina libre se midieron

tras precipitación de la fracción ligada a anticuerpos mediante polietilenglicol al 20 % P/V; en cada serie se utilizaron dos curvas estándar una en presencia y otra en ausencia de polietilenglicol. Tras corrección por dilución, ambas curvas se correlacionaban perfectamente ($r = 0,9991$). El límite de detección era de 5 mU/l; el coeficiente de variación intraensayo de la técnica utilizada es de $\pm 4,5\%$ y el coeficiente de variación interensayo $\pm 9,5\%$ (3). En todos los casos las muestras del mismo sujeto se analizaron en el mismo enzimo —o radio— inmunoanálisis.

Análisis estadístico. — Los resultados obtenidos en los distintos parámetros metabólicos y hormonales de ambas pruebas, se han correlacionado mediante análisis de regresión lineal, calculándose el coeficiente de correlación (r) y la ecuación de la recta que presenta el mejor ajuste lineal.

Tabla I. *Características clínicas de los sujetos estudiados (5 varones/3 mujeres)*

Parámetro	Media \pm SEM
Edad (años)	43 \pm 3
Talla (cm)	168 \pm 1
Peso (kg)	65 \pm 2
Duración diabetes (años)	20 \pm 3

Tabla II. *Análisis de regresión lineal entre los factores hormonales y metabólicos medidos cada hora, entre las 23 h y las 05 h, en pacientes diabéticos tratados mediante infusión continua s.c. de insulina (1,1 \pm 0,2 U/h). (n = 8).*

	Insulina libre	Glucagón	HGH	Cortisol
Glucemia	$r = 0,4220$ ($p < 0,01$)	$r = 0,3736$ ($p < 0,01$)	n.s.	n.s.
FFA	$r = 0,5196$ ($p < 0,01$)	n.s.	n.s.	n.s.
Glicerol	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
3-OH-butirato	$r = 0,4242$ ($p < 0,01$)	n.s.	n.s.	n.s.

Resultados

Cuando se mantiene la infusión de insulina a razón de $1,1 \pm 0,2$ U/h, los niveles de insulina libre se mantienen estables, al igual que los de glucagón o HGH, no registrándose cambios significativos; tan sólo el cortisol muestra tendencia a aumentar durante la madrugada, como cabía esperar. Tampoco se modifica significativamente ninguno de los factores metabólicos estudiados (glucemia, ácidos grasos no esterificados, glicerol o 3-OH-B), que se mantienen estables. Los niveles de insulina libre se correlacionan inversamente con la glucemia, ácidos grasos libres o 3-OH-B, pero no con el glicerol, mientras que el glucagón sólo se correlaciona de forma significativa con la glucemia (tabla II). Los niveles de ácidos grasos libres se correlacionan débilmente con los de glicerol ($r = 0,2863$, $p < 0,05$), mientras que la glucemia se correlaciona con los de 3-OH-butirato ($r = 0,4997$, $p < 0,01$). Ni el cortisol ni la hormona de crecimiento se correlaciona con ninguno de los factores metabólicos estudiados ni con los niveles de insulina o glucagón, sin embargo los niveles de insulina libre y glucagón sí se correlacionan entre sí ($r = 0,4391$, $p < 0,01$).

Cuando se interrumpe la infusión de insulina, los niveles de insulina libre sufren una progresiva disminución, lo que se

Tabla III. Análisis de regresión lineal entre los factores hormonales y metabólicos medidos cada hora, entre las 23 h y las 0,5 h, en pacientes diabéticos en los que se interrumpe la infusión continua s.c. de insulina ($1,1 \pm 0,2$ U/h) a las 23 h. (n = 8).

	Insulina libre	Glucagón	HGH	Cortisol
Glucemia	r = 0,4139 (p < 0,01)	n.s.	n.s.	r = 0,3294 (p < 0,05)
FFA	r = 0,3644 (p < 0,05)	r = 0,3115 (p < 0,05)	n.s.	n.s.
Glicerol	r = 0,3623 (p < 0,05)	r = 0,3496 (p < 0,01)	n.s.	n.s.
3-OH-butirato	r = 0,4948 (p < 0,01)	r = 0,3365 (p < 0,05)	n.s.	n.s.

acompaña de un rápido incremento de glucemia, ácidos grasos libres y 3-OH-B, no modificándose, sin embargo, los niveles de glicerol. Los niveles de hormona de crecimiento no sufren modificación, mientras que los de glucagón aumentan tardíamente, al cabo de 3-4 h de haberse detenido la infusión de insulina. En esta situación, los niveles de insulina libre se correlacionan de forma altamente significativa (tabla III) con la glucemia y 3-OH-B, y de manera menos clara con ácidos grasos libres y glicerol (fig. 1). La correlación también es significativa aunque débil entre glucagón y ácidos grasos libres, glicerol o 3-OH-B (tabla III), sin embargo el glucagón que sí se correlaciona con la insulina ($r = 0,4291$, $p < 0,01$) no lo hace con la glucemia. Los niveles de ácidos grasos libres se correlacionan de forma altamente significativa con 3-OH-butirato ($r = 0,5485$, $p < 0,01$) y glicerol ($r = 0,3962$, $p < 0,01$) y las dos primeras también con la glucemia ($r = 0,5568$, $p < 0,01$ y $r = 0,3962$, $p < 0,01$). Ni la hormona de crecimiento, ni el cortisol se correlacionan de forma significativa con ninguno de estos parámetros metabólicos, a excepción de una débil correlación positiva que se observa entre cortisol y glucemia (tabla III).

Discusión

En ausencia de cualquier secreción endógena de insulina, la infusión continua subcutánea de la misma mantiene una situación metabólica estable, sin variaciones en los niveles de insulina y hormonas contra-reguladoras (11), sobre todo las que, como el glucagón, ven alterada su secreción por los propios niveles de insulina circulantes (25). Con esta estabilidad metabólica, el nivel de glucemia viene condicionado por el balance entre su utilización periférica y su producción hepática, fenómenos que están regulados fundamentalmente por los niveles de insulina y glucagón (5, 17). Los resultados expuestos muestran cómo los niveles de glucemia se correlacionan significativamente con ambas hormonas, pero no con las otras hormonas contra-reguladoras medidas.

El grado de lipólisis viene regulado por el enzima del tejido adiposo lipasa tisular hormono dependiente, cuya actividad es inhibida por la insulina y aumentada por el glucagón, cortisol, hormona de crecimiento y catecolaminas (16). Los productos de la lipólisis son ácidos grasos y glicerol, que son rápidamente captados por el hígado proporcionalmente a su concentración plasmática (15). En presencia de

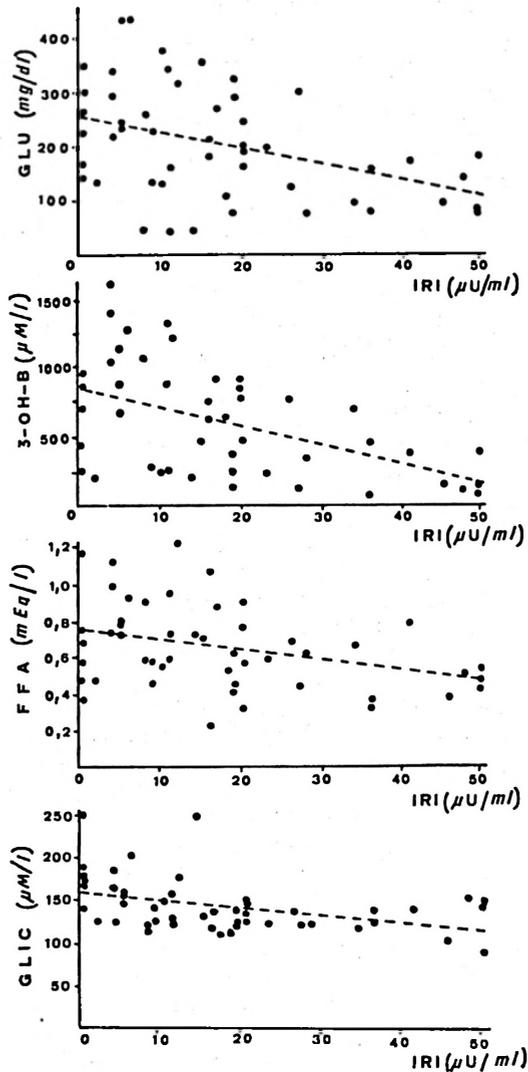


Fig. 1. Valores individuales y representación lineal del mejor ajuste en las correlaciones estadísticamente significativas que se producen entre los niveles de insulina libre (IRI) y los de glucemia (GLU), 3-OH-butirato (3-OH-B), ácidos grasos libres (FFA) o glicerol (GLIC) cuando se ocasiona una disminución específica de los niveles de insulina.

insulina, los niveles de ácidos grasos libres sólo se correlacionan significativamente con ella y no con otra hormona contra-reguladora medida, ni siquiera con el glucagón, lo que confirma el papel preponderante de la insulina en esta regulación del metabolismo lipídico (16). Según los resultados expuestos, el grado de cetogénesis, manifestado por los niveles circulantes de 3-hidroxi-butirato, viene regulado por los niveles circulantes de insulina ya que en su presencia sólo con ella se correlaciona y no con los niveles de otras hormonas contra-reguladoras. La influencia de la insulina sobre los niveles circulantes de cuerpos cetónicos no sólo está en relación con el nivel de cetogénesis, sino también en relación con el grado de captación tisular de cuerpos cetónicos, que también es un proceso dependiente de insulina (16) y que se ve influido, en el mismo sentido que la glucosa, por el grado de sensibilidad periférica que muestran los tejidos a la acción de la insulina, como lo prueba el hecho de que los pacientes obesos, que presentan resistencia a la insulina, tengan mayores niveles de glucemia y 3-OH-butirato que los sujetos sanos o con anorexia nerviosa (4).

Cuando se produce una disminución de la insulina, la glucemia aumenta correlacionándose con los niveles de insulina, pero no con los de glucagón, aun a pesar de que ambas hormonas sí se correlacionan entre sí; lo que indica que la elevación de la glucemia está condicionada no tanto por la elevación del glucagón como por la disminución de la insulina. Estos resultados contrastan con los obtenidos cuando se hace disminuir los niveles de insulina circulante en presencia de una infusión de somatostatina, en cuyo caso la hiperglucemia que se alcanza es significativamente menor (22), aunque su efecto ocasiona un importante descenso inicial de la glucemia, lo que determina que se parta de valores más bajos. Es posible que la elevación del cortisol en las primeras horas de la madrugada haya contribuido a una tardía ele-

vación de la glucemia, quizás a través de una disminución de la sensibilidad periférica a la acción de la insulina (7, 18) o a un aumento de la producción hepática de glucosa (23), si bien la existencia de una correlación estadísticamente significativa no implica necesariamente una relación directa causa-efecto, siendo en este caso particularmente evidente ya que la elevación circadiana de cortisol coincide casualmente con la elevación de la glucemia secundaria a la privación de insulina.

Cuando los niveles de insulina descienden, la lipólisis y cetogénesis se activan, en ambos procesos tanto la insulina como el glucagón juegan un papel igualmente importante, ya que ácidos grasos no esterificados, glicerol o 3-OH-B se correlacionan significativamente con ambas hormonas. En este sentido y ateniéndose a resultados previos (21, 22), la elevación del glucagón tiene un efecto suplementario al que determina la disminución de insulina; cuando la interrupción de la infusión de insulina es tan sólo de dos horas, los niveles de glucagón no se modifican, mientras que sí descienden los de insulina, y se produce tan sólo una elevación inicial del 3-OH-B que acaba estabilizándose a un nivel superior (21). Por otro lado, la infusión de somatostatina que impide el aumento de glucagón yugula la elevación tardía, que no la inicial, de los cuerpos cetónicos (22). En nuestras condiciones experimentales, otras hormonas contra-reguladoras como HGH y cortisol no parecen jugar un papel evidente, lo que concuerda con la relativa falta de efecto de un estrés psicológico en la provocación de hiperglucemia (2). La experiencia clínica muestra, por el contrario, que un estrés físico como puede ser una enfermedad intercurrente origina un deterioro metabólico a veces notable y, en condiciones experimentales, la activación del sistema de contra-regulación precede a la descompensación metabólica en pacientes diabéticos (20). Los resultados aquí presentados prueban que, al menos en lo que se refiere

a la degradación metabólica consecuente al déficit de insulina y en ausencia de estrés psíquico o físico de importancia, el grado de hiperglucemia que se alcanza está en función del déficit de insulina y no tanto en función del exceso de hormonas contra-reguladoras (glucagón, HGH, cortisol). De la misma manera, el grado de lipólisis y cetogénesis evidenciado respectivamente por los niveles de ácidos grasos libres y glicerol, y por los niveles de 3-OH-B, viene determinado por la insulina cuando ésta permanece a una concentración plasmática adecuada y tanto por la insulina como por el glucagón cuando los niveles de insulina descienden; de nuevo aquí, hormona de crecimiento y cortisol no parecen tener una influencia manifiesta.

Resumen

En pacientes diabéticos tratados mediante infusión continua s.c. de insulina ($1,1 \pm 0,2$ U/h), los niveles (medidos cada hora desde las 23 h hasta las 05 h) de glucemia, ácidos grasos no esterificados (FFA), glicerol y 3-OH-butirato (3-OH-B) se correlacionan con los niveles circulantes de insulina libre, glucagón, hormona de crecimiento o cortisol, en dos condiciones experimentales: a) La infusión de insulina se mantiene en la forma habitual (niveles fisiológicos de insulina libre). b) Niveles de insulina libre progresivamente decrecientes (la infusión de insulina se detiene a las 23 h). En el primer caso, los niveles de glucemia se correlacionan de forma significativa con insulina y glucagón; FFA, glicerol y 3-OH-B se correlacionan solamente con la insulina. En el segundo caso, la glucemia se correlaciona significativamente con la insulina, pero no con el glucagón, mientras que FFA, glicerol y 3-OH-B se correlacionan tanto con la insulina como con el glucagón, pero no con la hormona de crecimiento ni con el cortisol. Por consiguiente, ninguna de ambas hormonas contra-reguladoras parecen jugar un papel determinante en la degradación metabólica que sigue a la privación de insulina, siendo la disminución de los niveles de insulina y en menor medida el incremento de glucagón, los responsables de esa degradación metabólica.

Palabras clave: Insulina, Glucagón, Hormona de crecimiento, Cortisol, Diabetes.

Bibliografía

1. Beylot, M., Santot, G., Dechaud, H., Cohen, R. Riou, J. P., Serusclat, P. y Mornex, R.: *Diabet. Metab.*, 11, 111-117, 1985.
2. Carter, W. R., Gonder-Frederick, L.A., Cox, D. J., Clarke, W. L. y Scott, D.: *Diabetes Care*, 8, 411-412, 1985.
3. Castillo, M., Nemery, A., Verdin, E., Lefebvre, P.J. y Luyckx, A.S.: *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 25, 767-771, 1983.
4. Castillo, M., Scheen, A., Lefebvre, P. J., Luyckx, A. S.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60, 311-314, 1985.
5. Chiasson, J. L. y Cherrington, A. D.: En «Glucagón» (P. J. Lefebvre ed.) Springer-Verlag, Berlín, 1983. pp. 361-382.
6. Cryer, P.E., White, N. H. y Santiago, J. V.: *Endocr. Rev.*, 7, 131-139, 1986.
7. DePiro, R., Bertoli, A., Fusco, A., Testa, I. y Greco, A.R.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 51, 503-507, 1980.
8. Dole, V. P. y Meinertz, H.: *J. Biol. Chem.*, 235, 2.595-2.599, 1960.
9. Eggstein, M. y Kuhlman, E.: *Meth. Enzym. Anal.*, 4, 1.825-1.831, 1974.
10. Gerich, J. E., Lorenzi, M., Bier, D. M., Tsalikian, E., Schneider, V., Karam, J. H. y Forsham, P.H.: *J. Clin. Invest.*, 57, 875-884, 1976.
11. Krzentowski, G., Scheen, A. J., Castillo, M., Luyckx, A. S. y Lefebvre, P. J.: *Diabetologia*, 24, 314-318, 1983.
12. Lefebvre, P. J., Luyckx, A. S., Scheen, A. J., Castillo, M., Jandrain, B. y Krzentowski, G.: *Ann. Diabetol. Hotel Dieu*, París, 163-174, 1984.
13. Luyckx, A. S.: En «Glucagón, molecular physiology, clinical and therapeutic implications» (Lefebvre, P. J. y Unger, R. H., eds). Pergamon Press. Oxford, 1972, pp. 285-298.
14. Luyckx, A. S., Scheen, A. J., Castillo, M. Jandrain, B., Paolisso, G. y Henrivaux, P.: *Ann. Diabetol. Hotel Dieu*, 35-52, 1984.
15. McGarry, J. D., y Foster, D. W.: *Ann. Rev. Biochem.*, 49, 395-420, 1980.
16. Porte, D. y Halter, J. B.: En «Textbook of Endocrinology» (Williams R.H., ed.). W. Saunders. Filadelfia 1981, pp. 716-843.
17. Rizza, R. A., Mandarino, L. J. y Gerich, J. E.: *Am. J. Physiol.*, 240, E630-639, 1981.
18. Rizza, R. A., Mandarino, L. J. y Gerich, J. E.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54, 131-138, 1982.
19. Schade, D. S. y Eaton, R. P.: *Diabetes Care*, 2, 296-306, 1979.
20. Schade, D. S. y Eaton, R. P.: *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 50, 131-136, 1980.
21. Scheen, A. J., Castillo, M., Jandrain, B., Krzentowski, G., Henrivaux, P., Luyckx, A. S. y Lefebvre, P. J.: *Diabetes Care*, 7, 338-342, 1984.
22. Scheen, A., Krzentowski, G., Castillo, M., Lefebvre, P. J., y Luyckx, A. S.: *Diabetologia*, 24, 319-325, 1983.
23. Shamooin, H., Hendler, R. y Sherwin, R. S.: *Diabetes*, 29, 284-291, 1980.
24. Sulon, J., Demey, Ponsart, E., Bauduin, P. y Sodoyez, J. C.: *J. Steroid Biochem.*, 9, 671-676, 1978.
25. Unger, R. H.: *Diabetes*, 32, 575-583, 1983.

