

Comportamiento de las proteínas y glicoproteínas del plasma en perros diabéticos

M. Morell, F. Perán, M. Monteoliva y J. López-Gorgé

Departamento de Fisiología y Bioquímica. Facultad de Medicina.
Universidad de Granada (España)

(Recibido el 11 de agosto de 1969)

M. MORELL, F. PERAN, M. MONTEOLIVA and J. LOPEZ-GORGE, *Patterns of Plasmatic Proteins and Glycoproteins in Diabetic Dogs*. R. esp. Fisiol., 26, 47-52, 1970.

This work puts forward data obtained from 27 pancreatectomized dogs which lived for a duration of greater than a month, during which period a study was made on the relative compensation by exogenous insulin; and on tyrosine the supression of this substitutive treatment during a determined lenght of time. The study of the seromuroid fractions of tyrosine, hexoses (galactose, mannose), glucosamine and sialic acid of these animals, with simultaneous determinations of the total proteins and its fractions; and of the glucemic levels were performed. The results showed an increase in all the seromuroid fractions, with moderate level in insulin treated dogs. The plasma proteins followed a totally inverse pattern with a tendency to increase discretely on controlling the dogs with insulin. The protein fractions showed a decrease in albumin and an increase in alpha globulins, the changes in the rest of the fractions registered were of minor importance. The glucemic levels displayed a great variability, especially in its day to day levels.

En una serie de publicaciones previas se han ido exponiendo los cambios que se producen en las proteínas totales y fracciones, glico y lipoproteínas, en perros a los que se había llevado a una situación diabética mediante pancreatectomía total (20, 21).

En estos trabajos previos se presentaron los datos referentes al período agudo, es decir, aquel que comprende los primeros siete días después de la intervención. En el trabajo actual se prolongaron las experiencias para estudiar a estos perros en situación crónica. Con el fin de tener una idea comparativa, hacemos mención en el presente trabajo de los datos referentes al período agudo, que eran incluidos en anteriores comunicaciones y que servirán aquí de referencia.

Material y métodos

Se utilizaron perros, con ayuno previo de 24 horas, de edades comprendidas entre los seis meses y los dos años.

La pancreatectomía se realizó, según técnica descrita en trabajos anteriores (20, 21), bajo anestesia con pentotal sódico endovenoso (30 mg/kg de peso) combinado con inyección intramuscular de Somnilefa, una ampolla (0,1 g de ácido dialilbarbitúrico y 0,1 g de dietilbarbitúrico).

A partir de las 12 horas después de la intervención se les administró, sistemáticamente, insulina semilenta a la dosis de 1 U.I./kg/día.

La determinación de las fracciones del seromucoide según los métodos originales descritos por uno de nosotros (16, 17) y

Tabla I. *Fracciones del seromucoide y de glucemia en plasma de perros pancreatetectomizados.*

Valores medios en mg % de tirosina (Tna.), hexosa (Hx), hexosamina (Hna.), ácido siálico (A. S.) y glucemia.

Experiencia		Tna.	Hx.	Hna.	A. S.	Glucemia
Basales	Media	3,50	14,20	8,00	7,50	110,80
	Dispersión	0,09	7,14	4,27	6,68	182,70
	Desviac. Std.	0,30	13,01	2,05	1,52	13,50
A las 24 horas	Media	4,30	22,20	13,00	12,60	177,60
	Dispersión	1,02	26,35	20,58	17,10	448,80
	Desviac. Std.	1,99	5,50	4,53	4,37	21,17
A las 48 horas	Media	5,80	26,30	16,00	14,60	207,80
	Dispersión	3,95	49,25	24,14	16,51	308,20
	Desviac. Std.	1,56	7,03	4,91	4,08	46,10
Período crónico (después de una semana)						
Con insulina	Media	4,70	22,40	16,90	12,60	215,00
	Dispersión	3,25	37,20	21,15	14,30	771,30
	Desviac. Std.	1,31	6,25	5,32	5,68	58,10
Sin insulina	Media	6,60	24,30	22,60	12,60	345,00
	Dispersión	5,73	42,80	37,90	17,80	2327,20
	Desviac. Std.	2,34	8,25	7,33	6,36	157,63

las proteínas y fracciones según la pauta detallada en trabajos anteriores (21).

Resultados

Se presentan los resultados correspondientes a la serie de los 27 perros, que tuvieron una supervivencia superior a un mes y que fueron estudiados en situación de compensación relativa con tratamiento insulínico o suprimiéndolo durante un período determinado.

De la observación de los resultados, y en comparación con los obtenidos en el período agudo, se pueden ver los siguientes cambios:

a) En las fracciones del seromucoide (tabla I) hay una tendencia a la normalización, excepto en la fracción hexosamina, cuyos valores siguen en niveles altos, aun cuando el perro está bajo control insulínico. En cambio, si se le priva de insulina, todas las fracciones del seromucoide tienden a subir, siendo esta elevación especialmente intensa en las fracciones co-

rrespondientes a las hexosas y a la hexosamina.

b) Las fracciones proteicas (tabla II), obtenidas por electroforesis, se alteran de forma diversa: la albúmina baja en los perros tratados con insulina, mientras que se eleva muy discretamente en los no tratados. Las globulinas alfa, tanto la fracción 1 como la 2, siguen subiendo, rebasando los niveles del período agudo. La situación creada por la supresión de insulina es similar a la existente en el período agudo. Las globulinas beta tienen un comportamiento inverso a las fracciones alfa. Las globulinas gamma se elevan a niveles superiores a los basales, para descender bruscamente al suprimir la insulina. Finalmente, es de destacar el comportamiento de la cifra total de proteínas, que es completamente inverso al de la fracción tirosina y, como consecuencia, al de la cifra de mucoproteínas totales.

c) Por lo que se refiere a la glucemia, podemos observar que no existen grandes

Tabla II. Proteínas totales y fracciones proteicas en plasma de perros páncreatocetomizados. Valores medios expresados en gramos por ciento y tanto por ciento del total.

	Albúminas							Globulinas							Prot. Total g %	
	%	g %	Alfa-1 % g %	Alfa-2 % g %	Beta % g %	Gamma % g %	Total g %	%	g %	Alfa-1 % g %	Alfa-2 % g %	Beta % g %	Gamma % g %	Total g %		
Media	52,9	2,70	4,1	0,20	8,90	0,50	17,3	0,90	15,1	0,70	5,1					
Dispersión	43,5	0,60	1,1	0,10	30,30	0,10	76,5	0,10	34,2	0,10	1,2					
Desviación Std.	6,6	0,80	1,1	0,40	5,50	0,20	8,7	0,30	5,8	0,02	1,1					
			A las 24 horas													
Media	48,1	2,10	4,8	0,20	14,40	0,60	18,1	0,80	14,5	0,60	4,3					
Dispersión	92,7	0,80	3,9	0,01	11,20	0,03	19,3	0,10	15,1	0,10	2,1					
Desviación Std.	9,3	0,90	2,0	0,02	3,40	0,20	4,4	0,30	3,9	0,30	1,5					
			A las 72 horas													
Media	47,6	1,80	4,9	0,20	14,7	0,50	19,9	0,70	13,9	0,50	3,7					
Dispersión	105,5	0,70	1,5	0,02	12,6	0,02	15,1	0,01	18,8	0,01	1,2					
Desviación Std.	10,3	0,90	1,2	0,10	3,5	0,10	3,9	0,10	4,3	0,10	1,1					
			Periodo crónico (después de una semana)													
			Con insulina													
Media	45,1	2,30	5,6	0,30	16,1	0,80	17,1	0,90	16,3	0,80	5,1					
Dispersión	87,2	0,60	2,1	0,10	11,5	0,10	14,8	0,03	14,3	0,20	2,1					
Desviación Std.	8,9	0,80	1,5	0,01	4,3	0,10	4,6	0,10	2,9	0,10	1,2					
			Sin insulina													
Media	48,1	2,10	4,8	0,20	14,8	0,60	18,9	0,80	13,4	0,60	4,2					
Dispersión	121,2	0,90	4,2	0,10	27,1	0,20	20,1	0,30	19,3	0,30	2,3					
Desviación Std.	15,2	1,10	2,3	0,50	5,1	0,10	7,2	0,10	7,2	0,20	1,4					

diferencias en los distintos períodos y situaciones, salvo si se deja de inyectar insulina. Es de destacar las enormes dispersiones que se observan en este apartado (tabla I).

Discusión

El que el seromucoide se mantenga en límites altos en los perros diabéticos puede deberse a fenómenos de orden local y general: mayor actividad del tejido conectivo y cambios en las funciones endocrinas de las glándulas más íntimamente relacionadas con la regularización del metabolismo de las glicoproteínas. Los cambios en el tejido conjuntivo parecen consistir en una mayor proliferación y posibles procesos de despolimerización de los constituyentes de la sustancia fundamental, los cuales están íntimamente relacionados con los del seromucoide (12). Entre los factores de tipo endocrino, especialmente los cambios que se producen en el eje hipófiso-suprarrenal (3).

En un plano distinto, se hace necesario considerar la integridad de la función hepática, ya que se puede afirmar que existe una proporcionalidad constante entre los niveles plasmáticos de las glicoproteínas y la integridad funcional y estructural del hígado, que, por lo demás, puede verse afectada en estos casos (como criterio de función hepática se siguió la prueba de la bromosulfoftaleína). Esto, que hemos tenido ocasión de observarlo en la clínica (17, 19), se ha comprobado experimentalmente en perros (23).

Las variaciones en cada una de las fracciones del seromucoide se pueden justificar, al menos en parte. Se sabe que existe una mayor actividad transaminásica en los tejidos diabéticos, lo cual está en relación con la intensa degradación proteica ligada a la neoglucogenesis. Esto, unido al aumento de catabolismo de los aminoácidos y a los mayores niveles de glutamina — como dador de grupos amino — crea las condiciones ideales para una mayor producción de hexosaminas. La elevación

del ácido siálico se puede explicar por el marcado aumento de ácido pirúvico que existe en estas circunstancias, así como de UDP-acetilmanosamina (10), siendo los dos elementos a partir de los cuales se realiza la síntesis del ácido siálico: condensación aldólica de la acetil-manosamina con el ácido pirúvico (13).

En cuanto al comportamiento de las proteínas, se observa que, frente a la clara disminución proteica que existía en la fase aguda, las proteínas totales en los perros tratados con insulina tienden a normalizarse, hasta el punto de llegar a niveles totalmente normales en los casos en los que se hizo una sobredosificación de insulina (22), con lo que el balance nitrogenado se equilibra y las pérdidas ponderales son menos ostensibles. Y es que la función corticosuprarrenal es un eslabón de primera categoría en la génesis proteica, de tal manera que en las situaciones de hiperfunción, que es lo que ocurre en las diabetes descompensadas, las proteínas plasmáticas tienden a descender (3, 22), mientras que al inyectar insulina o al suprimir la acción corticosuprarrenal, las proteínas se normalizan o tienden a subir, respectivamente. El resto de las alteraciones de las fracciones del espectro proteico podríamos justificarlas, además de por las razones expuestas, por las afirmaciones de GRAS y WUHRMAN (9, 26), siempre que se produce una perturbación no compensada del metabolismo de las proteínas plasmáticas, se establece un desequilibrio entre sus fracciones, en el sentido de un déficit de la fracción albúmina.

Por lo que se refiere al comportamiento de la glucemia, es de destacar las enormes dispersiones que se observan en la tabla I, debido a sus constantes oscilaciones, a pesar de los tratamientos insulínicos diarios. Esto hace pensar, de acuerdo con ANTONIADES (1), en la existencia de una insuficiencia parcial de la insulina exógena. La insulina administrada a estos perros podría fijarse con preferencia a las globulinas alfa, fracción plasmática rica en gli-

coproteínas, que, además, se encuentra claramente aumentada en estas circunstancias.

Teniendo en cuenta lo antes dicho, se puede observar que la acción normalizadora de las cifras de seromucoide por la insulina es más constante que su acción normogluceante. Si se admite la insuficiencia relativa de la insulina exógena, inyectada por nosotros, esto se podría interpretar en el sentido de que la formación de un posible complejo llegaría a inactivarla parcialmente. Se podría pensar que esta insulina ligada, que es activa en el tejido adiposo pero inactiva en el músculo (14, 11), fuese eficaz para mantener las cifras de glicoproteínas del plasma, pero no para controlar la glucemia. Esto pudiera deberse a un fallo en alguno de sus puntos de acción; quizás sobre el músculo, lo cual explicaría lo irregular de su efecto hipogluceante. Asimismo, es posible la formación de un complejo entre la cadena beta de la insulina y alguna de las fracciones proteicas del plasma, del tipo de la sin-albúmina (25), descrito en sujetos prediabéticos y en sujetos con fuerte incidencia familiar de diabetes.

Este último planteamiento entra dentro de la línea del dilema que plantean GRODSKY y FORSHMAN (11), de si la insulina combinada tendría alguna acción fisiológica, cosa que estiman poco probable, pues los sueros anti-insulínicos provocan una verdadera diabetes — más o menos pasajera — aunque sigue habiendo insulina ligada circulante. En relación con esto, no se puede pensar que en nuestros casos se trate de una neutralización por anticuerpos: la fracción gamma no se altera apenas, no transcurrió tiempo suficiente para la formación de anticuerpos, etc. Más bien se podría pensar en otras fracciones proteicas, concretamente en las alfa-globulinas y en las glicoproteínas, que se encuentran elevadas y que pudieran constituirse en elementos de unión con la insulina para formar la insulina combinada. Esto es sólo una especulación, hasta tanto

los estudios que se están llevando a cabo sobre purificación y aislamiento de las distintas fracciones del seromucoide en gel de poliacrilamida y su aplicación al estudio de la acción de la insulina *in vitro* estén más avanzados.

Finalmente, por lo que se refiere al metabolismo sintético de las glicoproteínas, son innumerables las publicaciones (2, 5, 6, 8, 15, 24) que se ocupan de las distintas modalidades de la incorporación de las hexosaminas, fucosa, ácidos siálicos y demás componentes glicídicos a la macromolécula proteica. En todos estos trabajos existe el acuerdo de que, tanto los procesos biosintéticos de dichos componentes, como su incorporación a las glicoproteínas, se realizan en el hígado y son, con toda seguridad, insulín-dependientes.

Resumen

Se presentan los datos correspondientes a 27 perros pancreatectomizados que tuvieron una supervivencia superior a un mes y que se estudiaron, ya en situación de compensación relativa mediante insulina exógena, ya suprimiendo el tratamiento sustitutivo durante un determinado período de tiempo. Se estudiaron en estos animales las fracciones del seromucoide correspondientes a la tirosina, hexosas (galactosa-manosa), glucosamina y ácido siálico. Simultáneamente se hicieron determinaciones de las proteínas totales y sus fracciones, y de la glucemia.

Se pudo comprobar un aumento de todas las fracciones del seromucoide, que se hizo más moderado cuando los perros estuvieron controlados con insulina. Las proteínas plasmáticas siguieron un comportamiento totalmente inverso, de tal manera que tienden a subir discretamente al controlar los perros con insulina. Las fracciones también sufrieron alteraciones, de tal forma que la albúmina baja en los perros tratados, mientras las alfa globulinas suben; menos importantes fueron los cambios registrados en el resto de las fracciones. Las cifras de glucemia tuvieron una gran variabilidad, especialmente en su comportamiento día a día.

Bibliografía

1. ANTONIADES, H. H.: *Endocrinology*, **87**, 7, 1961.

2. BENSON, S. A., YALOW, R. S., BAUMAN, A., ROSTCHILD, C. M. y NEWRLY, K. J.: *J. Clin. Invest.*, **35**, 170, 1956.
3. BERNIER, J. J. y PAUPE, J. J.: *Glucides. Physiologie et Biochemie normales et pathologiques*. Masson & Cie. Paris.
4. BROWN, E. M., LUKENS, F. D., ELKINGTON, J. R. y DEMOOR, P.: *J. Clin. Endocr.*, **11**, 1363, 1950.
5. CHAG, P. Y., KARAM, J. H. y GROSKY, G. M.: *Diabetes*, **14**, 27, 1965.
6. DIENGOT, D., HALEVY, S. y GUGENHEIM, K.: *Endocrinology*, **65**, 602, 1959.
7. ENSNICK, J., COOMBS, J. G., WILLIAMS, R. H. y WALLANCE-OWEN, M.: *J. Biol. Chem.*, **239**, 3377, 1964.
8. ENSNICK, J., MAHLER, R. J. y WALLANCE-OWEN, M.: *Biochem. J.*, **94**, 150, 1965.
9. GRAS, J.: «Proteínas plasmáticas». Ed. Jims. Barcelona, 1961.
10. FITCH, W. M. y CHAICOFF, I. L.: *Biochem. Biophys. Acta*, **57**, 583, 1962.
11. GROSKY, G. M. y FORSHAM, P. H.: *Ann. Rev. Physiol.*, **28**, 365, 1966.
12. JAYLE, M. E. y BOUSSIER, G.: *Exp. Ann. de Biochem. Medical*, **17**, 157, 1955.
13. KHON, K., WINZLER, R. y HOFFMAN, R.: *J. Biol. Chem.*, **237**, 304, 1962.
14. LUKENS, F.: *Diabetes*, **13**, 451 bis, 1964.
15. MACBETH, R. A. BEKESI, J. B., SUDGEN, E. y BICE, S.: *J. Biol. Chem.*, **240**, 3707, 1965.
16. MORA, R. J., BUESO, J., MORELL, M. y PELÁEZ, J.: *Rev. Clin. Esp.*, **98**, 29, 1965.
17. MORELL, M.: *Act. Med.*, **178**, 190, 1966.
18. MORELL, M., BUESO, J., MORA, R. J. SÁNCHEZ AGESTA, A. y PELÁEZ, J.: *Rev. Clin. Esp.*, **97**, 237, 1965.
19. PELÁEZ, J., MORA, R. J., MARTÍNEZ SIERRA, F. y MORELL, M.: *Reunión de Med. Int. Madrid*, 1962.
20. PERÁN, F. y MORELL, M.: *Laboratorio*, **207**, 224, 1964.
21. PERÁN, F., MONTEOLIVA, M., MORELL, M. y LÓPEZ-GORGÉ, J.: *Laboratorio*, **234**, 301, 1964.
22. PERÁN, F., MORELL, M. y VÁZQUEZ, A.: Observaciones no publicadas. 1968.
23. PERÁN, F., MORELL, M. y CABRERA, A. L.: *Ars Pharm.*, **3**, 15, 1965.
24. RANDLE, R. J., GARLAND, P. B., HALES, C. N., NEWSHOLME, E. A., DEUTON, R. M. y FOGSON, C. I.: *Recent Progress in Horm. Res.*, p. 22. Academic Press. Londres, 1966.
25. WALLANCE-OWEN, M., DENNES, E. y CAMPBELL, P. N.: *Lancet*, **2**, 236, 1958.
26. WURHMAN, F. y WUNDERLEY, CH.: «Die Bluteiwesskorper des Menschen». Benno Schwabe. Basilea, 1947.